



**Instituto Español de Oceanografía
Centro Oceanográfico de A Coruña**



**Universidad de Santiago de Compostela
Instituto de Acuicultura**

Estudio de la reproducción y reclutamiento de los pectínidos de interés comercial de las rías gallegas

Tesis Doctoral

**Memoria presentada por la Licenciada Paula Iglesias González para optar al título
de Doctora en Biología por la Universidad de Santiago de Compostela**

Paula iglesias González

Santiago de Compostela, 2012



**Instituto Español de Oceanografía
Centro Oceanográfico de A Coruña**

**Universidad de Santiago de Compostela
Instituto de Acuicultura**

Guillermo Román Cabello, Investigador Titular del Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de A Coruña; **Joaquín Espinosa Gallego**, Profesor Titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela y **Óscar García Martín**, Profesor Titular del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Santiago de Compostela,

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado **"Estudio de la reproducción y reclutamiento de los pectínidos de interés comercial de las rías gallegas"**, que presenta la Lcda. Paula Iglesias González para optar al grado de Doctora en Biología, ha sido realizado bajo nuestra dirección, y considerando que a la fecha ha sido concluido autorizamos su presentación para que así pueda ser juzgado por el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos la presente en Santiago de Compostela en julio de 2012.

Fdo.: Dr. Guillermo Román Cabello

Fdo.: Prof. Dr. Joaquín Espinosa Gallego

Fdo.: Prof. Dr. Óscar García Martín

Esta tesis fue posible gracias a la beca de Formación Predoctoral como Personal Investigador financiada por el Instituto Español de Oceanografía, especialidad en "Biología y cultivo de pectínidos: reproducción, acondicionamiento, cultivo larvario y cultivo en suspensión", y se desarrolló en el Centro Oceanográfico de A Coruña y en la Universidad de Santiago de Compostela durante los años 2006-2010.

Así mismo, el trabajo experimental ha obtenido recursos económicos de los siguientes proyectos de investigación, a los cuales ha contribuido con sus resultados:

"PETRI-ZAMBURIÑA. Desarrollo del cultivo comercial de la zamburiña (*Chlamys varia*) en Galicia."

Entidad financiadora: MEC (Plan Nacional I+D+I 2004-2007), IEO

Entidades participantes: IEO, USC

Duración: febrero/2005 a diciembre/2007

"CULVOL. Obtención de resultados preliminares para el desarrollo comercial del cultivo de volandeira (*Aequipecten opercularis*) a partir de semilla obtenida con colectores."

Entidad financiadora: IEO

Entidades participantes: IEO (C. O. Coruña)

Duración: enero/2007 a diciembre/2007

"RECULZAM. Relación entre la reproducción y el reclutamiento de la zamburiña, *Chlamys varia* en la ría de Sada-Betanzos. Implicaciones para el cultivo."

Entidad financiadora: IEO

Entidades participantes: IEO (C. O. Coruña)

Duración: enero/2008 a diciembre/2008

"Captación, preengorde y cultivo de la volandeira (*Aequipecten opercularis*) y vieira (*Pecten maximus*)."

Entidad financiadora: Xunta de Galicia

Entidades participantes: IEO y Comunidad Autónoma de Galicia a través de la CPAM

Duración: octubre/2008 a 31 diciembre/2010

A mi familia

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría agradecer a mis directores de tesis Dr. Guillermo Román, Dr. Joaquín Espinosa y Dr. Oscar García, todo su apoyo y esfuerzo durante estos años. Por haberme orientado y enseñado a “hacer ciencia” tanto en el mar como en el laboratorio.

A mis compañeros del Departamento de Pectínidos del IEO de A Coruña especialmente a Gelines Louro gracias por enseñarme y contagiarme su entusiasmo por los pectínidos y compartir inquietudes y proyectos tanto acuícolas como “artísticos”. A Bruno Bea, Tere Granell, Marta Andrade y José Varela con los que compartimos innumerables muestreos, disecciones y horas de lupa, muchas gracias, todo sería distinto sin vosotros, los “quinse”, la sidrina o los nudos marineros. Sin olvidar a Juan Pablo De la Roche, a quien conocí a mi llegada al Instituto y en cada visita me dio interesantes consejos.

A todo el equipo del IEO de A Coruña especialmente a “los becarios” que recorrieron conmigo este largo camino: María Blanco, Marcos Cobas y Marian Torres. A los “ben-tónicos” Mari Carme Vázquez y Joaquín Valencia que siempre estuvieron “al otro lado” por compartir sus enseñanzas, buen humor y calma, a Elena Rey por darnos vidilla en los días de invierno, a Ícaro Gomes por su intercambio de ideas y sus deliciosos “ne-grinhos e branquinhos”, a Miguel Dosil por resolver todos nuestros “problemas técnicos”, a Paula Mallo por alimentar a nuestros pequeños, a Pablo, Carlota, Urbano, Concha, M^a Jesús, Charo, Manolo, Alejandra, Bego, Esther, Blanca, Ana, Manuel, Jorge...y así podría continuar un buen rato, gracias a todos.

Al patrón del B/O “Lura”, José Romero y a la tripulación: Luis Romero, Antonio de Miguel, Alonso Álvarez, Serafín Mourelle y Jesús Dopazo les agradezco su colaboración, disposición y enseñanzas durante las jornadas de batea.

A mis compañeros del Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela: Rosa Carril, Iria Maneiro, Sara Silva, Yaiza Sánchez y Ángeles Gómez por haberme explicado, aconsejado, ayudado a llevar a cabo el procesado histológico y conseguir estas preciosas muestras de zamburiña. Por los consejos de moda, las aventuras de bicis, animales o punkies, por la singularidad o el parecido entre pectínidos y ostréidos.

A Gustavo Hernández del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Santiago de Compostela por todas las tardes que dedicó en el microscopio al comienzo de mi formación histológica.

A las Cofradías de Pescadores San Cipriano Aldán-Hío y Virgen del Carmen de Cabo de Cruz. En especial a Pedro Ferreiro, Suso Iglesias y Teo.

A María Dolores Fernández - grupo PROINSA, a Lula Fernández y a los demás trabajadores de la Depuradora de mariscos DEMARLOSA, por su gran interés y participación en el desarrollo del cultivo de moluscos pectínidos en las rías gallegas.

A Carmen Pérez y Antonio Cerviño del CIMA, por todo lo enseñado y por los buenos ratos que pasamos durante nuestra colaboración.

Al INTECMAR, en especial a Yolanda Pazos por facilitarnos los valores semanales de los parámetros ambientales en las rías.

A todas aquellas personas que me han facilitado las publicaciones que tantas veces he consultado.

A mis amigos, por interesarse en cómo iba esta tesis, por intentar diferenciar entre vieiras, volandeiras y zamburiñas, por su confianza, por su apoyo emocional y por estar siempre conmigo.

A todos los que, con paciencia, se han leído y releído esta tesis durante su elaboración.

A Amaia, gracias por su cariño, apoyo y por estar a mi lado.

A mi familia y especialmente a mis padres, que han puesto todo su esfuerzo para que llegase hasta aquí.

Abreviaturas

♀	Hembra
♂	Macho
ADG	Célula adipogranular
At	Ovocito atrésico
B fugaz	Puesta fugaz de una gónada mixta
Bisexual ♂-♀	Animal bisexual macho-hembra
C	Cohorte de células germinales
C1	Primera cohorte de células germinales
C2	Segunda cohorte de células germinales
CAux	Célula auxiliar
CB	Cuerpos de Balbiani
CG	Célula gonadal
CH	Canal hemolinfático
Conj	Tejido conjuntivo
crmD	Cromosomas diacinéuticos
CS	Cambio de sexo
Dia	Diacinesis
Dip	Diploteno
Dt	Divertículo
EP	Epitelio pigmentado
EpC	Epitelio ciliado
EV	Envoltura vitelina
EZG	Esbozo gonadal
F	Fondeo
Fb	Fibroblasto
FG	Folículo gonadal
FG♀	Folículo gonadal femenino
FGm	Folículo gonadal mixto
FS	Fase sexual
FS♀	Fase sexual femenina
FS♂	Fase sexual masculina
FSF	Fase sexual funcional
FSF♂, FS♀L	Animal bisexual con fase sexual masculina funcional y fase sexual femenina no funcional
FSL	Fase sexual latente o no funcional
G	Gónada
G♀	Gonada femenina
G1	Gónada primaria
G2	Gónada secundaria
GD	Glándula digestiva
Gd	Gonoducto
GI	Gonadogénesis inicial o primaria
Gm	Gónada mixta
GrV	Gránulo de vitelo
GSC	Células madre germinales/Germinal Stem Cells
GV	Vesícula germinal/Germinal Vesicle
GVBD	Rotura de la vesícula germinal/Germinal Vesicle Breakdown
i	Animal con clase sexual indeterminada

ICG	Índice de condición gonadal
IGD	Índice de condición de la glándula digestiva
IM	Índice de condición del músculo aductor
Int	Intestino
Lep	Leptoteno
M	Mitosis
M	Muestreo
MA	Músculo aductor
MCC	Masa celular conjuntiva
Me	Meiosis
MeI	Meiosis I
MeII	Meiosis II
Met	Metafase
Mncl	Membrana nuclear
Ov	Ovocito
Ov1	Ovocito primario
Ovf	Ovocito fértil, óvulo, huevo
Ovg	Ovogonia
Ovg/c	Clon de ovogonias
Ovp	Ovocito previtelogénico
Ovpt	Ovocito previtelogénico temprano
Ovptv	Ovocito postvitelogénico
OvVj	Ovocito vitelogénico joven
OvVtd	Ovocito vitelogénico tardío
P	Puesta
PC	Proliferación clonal de ovogonias
PCG	Proliferación clonal en grupo
PCL	Proliferación clonal en línea
PF	Pared folicular
PGC	Células germinales primordiales/Primordial Germ Cells
PR	Periodo reproductivo
PR1	Primer periodo reproductivo
PR2	Segundo periodo reproductivo
PRT	Proliferación de espermatogonias con reducción de tamaño
SG	Serie gametogénica
SG♀	Serie gametogénica femenina
SG♂	Serie gametogénica masculina
Spc1	Espermatocito primario
Spc1/c	Clon de espermatocitos primarios
Spc2	Espermatocito secundario
Spdt	Espermátida temprana
Spdtd	Espermátida tardía
Spg	Espermatogonia
Spg1	Espermatogonia primaria
Spg2	Espermatogonia secundaria
Spg2/c	Clon de espermatogonias secundarias
Spz	Espermatozoide
SSG	Series gametogénicas
VC	Célula vesicular/Vesicular Cell
VCj	Célula vesicular joven

VCv	Célula vesicular vieja, en degradación
ZC	Zamburiña captada mediante colectores
ZH	Zamburiña producida en hatchery
Zig/Paq	Zigoteno/paquitenos
ZMCC	Zamburiña cultivada en suspensión en Cabo de Cruz, Ría de Arosa
ZML	Zamburiña cultivada en suspensión en Lorbé, Ría de Ares-Betanzos

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN GENERAL	19
1.1 Clasificación taxonómica	22
1.2 Características biológicas	22
1.2.1 Anatomía externa	22
1.2.2 Anatomía interna	24
1.3 Distribución y hábitat	25
1.4 Área de estudio	27
1.5 Antecedentes históricos y estado actual del recurso	29
1.5.1 Pesquerías	29
1.5.2 Pectinicultura	31
1.5.3 Presentación del producto	33
2. OBJETIVOS	35
3. CICLO REPRODUCTOR Y DE RESERVAS EN LA ZAMBURIÑA (<i>Chlamys varia</i> Linnaeus, 1758)	39
3.1 Introducción	41
3.1.1 Ciclo reproductor	41
3.1.2 Relación entre el ciclo reproductor y de reservas	45
3.2 Material y métodos	49
3.2.1 Sistema de cultivo	49
3.2.2 Material biológico	50
3.2.3 Cálculo de índices	53
3.2.4 Tratamientos estadísticos	53
3.3 Resultados	55
3.3.1 Crecimiento de la concha	55
3.3.2 Ciclo reproductor	55
3.3.3 Ciclo de reservas	59
3.3.4 Relación entre el ciclo reproductor y el ciclo de reservas	66
3.4 Discusión	67
3.4.1 Ciclo reproductor	67
3.4.2 Ciclo de reservas	68
3.4.3 Relación entre el ciclo reproductor y el ciclo de reservas	69
3.5 Conclusiones	73
4. CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL CICLO REPRODUCTOR, GONADOGÉNESIS Y GAMETOGÉNESIS DE <i>Chlamys varia</i> (Linnaeus, 1758) CULTIVADA EN SUSPENSIÓN EN LAS RÍAS DE GALICIA	75
4.1 Introducción	77
4.1.1 Gonadogénesis	77
4.1.1.1 Origen de la gónada y de las células germinales	77
4.1.1.2 Desarrollo de la gónada	78
4.1.1.3 Estructura de la gónada	78
4.1.2 Gametogénesis	80
4.1.2.1 Espermatogénesis	81
4.1.2.2 Ovogénesis	81

4.1.3	Ciclo reproductor.....	82
4.1.3.1	Estadíos del ciclo reproductor.....	83
4.1.3.2	Temporalidad del ciclo reproductor.....	83
4.1.4	Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo.....	84
4.1.5	Tejido de reserva.....	87
4.2	Material y métodos.....	89
4.2.1	Sistema de cultivo.....	89
4.2.2	Material biológico.....	89
4.2.3	Procesado histológico.....	90
4.3	Resultados.....	95
4.3.1	Gonadogénesis.....	95
4.3.1.1	Origen de la gónada y de las células germinales.....	95
4.3.1.2	Desarrollo de la gónada.....	97
4.3.1.3	Estructura de la gónada.....	98
4.3.2	Gametogénesis.....	104
4.3.2.1	Espermatogénesis.....	107
4.3.2.2	Ovogénesis.....	114
4.3.3	Ciclo reproductor.....	129
4.3.3.1	Estadíos del ciclo reproductor.....	130
4.3.3.2	Temporalidad del ciclo reproductor.....	137
4.3.4	Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo.....	144
4.3.5	Tejido de reserva.....	152
4.4	Discusión.....	157
4.4.1	Gonadogénesis.....	157
4.4.1.1	Origen de la gónada y de las células germinales.....	157
4.4.1.2	Desarrollo de la gónada.....	161
4.4.1.3	Estructura de la gónada.....	162
4.4.2	Gametogénesis.....	165
4.4.2.1	Espermatogénesis.....	166
4.4.2.2	Ovogénesis.....	169
4.4.3	Ciclo reproductor.....	179
4.4.3.1	Estadíos del ciclo reproductor.....	179
4.4.3.2	Temporalidad del ciclo reproductor.....	181
4.4.4	Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo.....	183
4.4.5	Tejido de reserva.....	187
4.5	Conclusiones.....	191

5. EFECTO DE LA PROFUNDIDAD SOBRE EL CICLO REPRODUCTOR Y DE RESERVAS DE LOS PECTÍNIDOS *Aequipecten opercularis* Y *Chlamys varia* EN LAS RÍAS GALLEGAS.....199

5.1	Introducción.....	201
5.2	Material y métodos.....	207
5.2.1	Sistema de engorde.....	207
5.2.2	Material biológico.....	207
5.2.3	Cálculo de índices.....	208
5.2.4	Parámetros ambientales.....	209
5.2.5	Tratamientos estadísticos.....	209
5.3	Resultados.....	211

5.3.1	Parámetros ambientales en Aldán, Ría de Pontevedra.....	211
5.3.2	Parámetros ambientales en Lorbé, Ría de Ares-Betanzos.....	211
5.3.3	Crecimiento de la concha.....	213
5.3.4	Crecimiento gonadal.....	214
5.3.5	Crecimiento de los tejidos somáticos.....	215
5.4	Discusión.....	219
5.4.1	Parámetros ambientales.....	219
5.4.2	Tendencias generales del patrón reproductivo y de almacenamiento de reservas.....	219
5.4.3	Patrones reproductivos.....	220
5.4.4	Efecto de las condiciones ambientales sobre las tendencias generales.....	220
5.4.5	Comparación entre especies.....	222
5.5	Conclusiones.....	223
6.	CAPTACIÓN DE SEMILLA DE PECTÍNIDOS EN LAS RÍAS GALLEGAS EMPLEANDO COLECTORES ARTIFICIALES.....	225
6.1	Introducción.....	227
6.2	Material y métodos.....	239
6.2.1	Montaje de colectores.....	239
6.2.2	Fondeo de colectores.....	241
6.2.3	Control periódico y despegue de la semilla.....	242
6.2.4	Tratamiento de los datos.....	245
6.3	Resultados.....	247
6.3.1	Asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra.....	247
6.3.1.1	Patrones de asentamiento y efectividad de los colectores.....	247
6.3.1.2	Evolución en el número de semilla.....	250
6.3.1.3	Crecimiento de la semilla.....	252
6.3.1.4	Predadores.....	253
6.3.2	Asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos.....	254
6.3.2.1	Patrones de asentamiento.....	254
6.3.2.2	Rendimiento de los colectores.....	255
6.3.2.3	Predadores.....	260
6.4	Discusión.....	263
6.4.1	Asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra.....	263
6.4.2	Asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos.....	264
6.5	Conclusiones.....	267
7.	ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LAS POSTLARVAS Y JUVENILES DE LOS PECTÍNIDOS CAPTADOS EN LAS RÍAS GALLEGAS.....	269
7.1	Introducción.....	271
7.1.1	Antecedentes.....	271
7.1.2	Estadios de desarrollo en los pectínidos.....	271
7.1.3	Evolución de la estructura valvar durante el desarrollo.....	274
7.2	Material y métodos.....	277
7.2.1	Material biológico.....	277
7.2.2	Procesado de las muestras.....	277
7.2.3	Descripción de las postlarvas y juveniles.....	279

7.3 Resultados.....	281
7.3.1 Identificación de la semilla.....	281
7.3.2 Descripción gráfica de los distintos estadios de desarrollo de las especies de pectínidos captados en las rías gallegas.....	288
7.3.3 Clave de identificación de los pectínidos captados en las rías gallegas.....	300
7.4 Discusión.....	303
7.5 Conclusiones.....	309
 8. BIBLIOGRAFÍA.....	 313
 9. DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	 337



1 –Introducción General

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los pectínidos por su forma y su amplio rango de colores, son el grupo más atractivo dentro de los moluscos bivalvos. Se conocen más de 400 especies pertenecientes a la familia Pectinidae, de las cuales 30 son especies potencialmente explotables. En la actualidad se producen aproximadamente 1,4 millones de Tm de pectínidos en el mundo mediante acuicultura y en Galicia hay tres especies de pectínidos que tienen interés comercial: *Chlamys varia* (zamburiña), *Aequipecten opercularis* (volandeira) y *Pecten maximus* (vieira).

Existen dos estructuras específicas que caracterizan a los pectínidos y los diferencian del resto de los moluscos bivalvos: un ligamento de sección triangular de color negro y aspecto gomoso, dispuesto interiormente en relación al borde de las valvas, denominado *resilium* (Waller, 1978), que está sometido a compresiones y tensiones por parte del músculo aductor; y una hilera de pequeños dientes en el borde ventral de la hendidura bisal de la valva derecha, llamada *ctenolium* (Waller, 1984), a través de los cuales pasan los filamentos del biso (Fig. 1.1.). Además éstos moluscos se caracterizan por poseer conchas redondeadas y simétricas, cuyo margen dorsal es recto y forma a cada lado del umbo un par de aurículas triangulares, generalmente asimétricas (Puyana & Velasco, 2008).

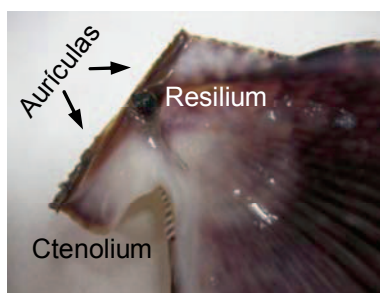


Fig. 1.1. Valva derecha mostrada las características diferenciales de los bivalvos pectínidos.

Los pectínidos presentan tentáculos sensoriales situados en el pliegue medio del manto. En la base de los mismos se encuentran los ocelos, situados de forma paralela al margen de la concha (Fig. 1.2.). Se trata de células epiteliales ciliadas con receptores táctiles y químicos, que detectan movimiento mediante su extensión y retracción constante (Brand, 1991) y cambios en la intensidad de la luz (Wilkins, 1991). En el pliegue interno del manto también se aprecian cortos tentáculos sensoriales.

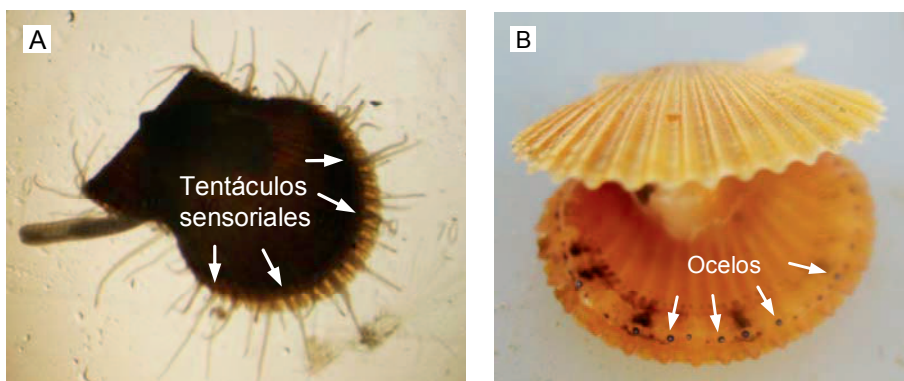


Fig. 1.2. Órganos sensoriales presentes en los pectínidos A) Juvenil de *Chlamys varia* mostrando los tentáculos sensoriales extendidos, B) Ejemplar de *Aequipecten opercularis* mostrando los ocelos.

Durante las primeras fases de vida sedentaria los pectínidos se fijan al sustrato mediante el biso, que posteriormente se mantendrá o no, según las especies. Los pectínidos pueden desplazarse y emplean la locomoción para evitar la predación o bien para la selección del hábitat. Si son atacados, se pueden desplazar mediante saltos bruscos, cerrando violentamente las valvas gracias al músculo aductor. Este desplazamiento puede ser por escape (el agua se introduce en la cavidad del manto ventral o lateralmente y sale dorsalmente arrastrando arena) o natación (cuando la salida del agua es ventral) (Lowe, 1996).

1.1 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de los pectínidos gallegos de interés comercial es la siguiente:

Filo Mollusca Linnaeus, 1758
Clase Bivalvia Linnaeus, 1758
Subclase Pteromorphia Beurlen, 1944
Orden Pterioidea Newell, 1965
Superfamilia Pectinoidea Rafinesque, 1815
Familia Pectinidae Rafinesque, 1815

Género *Chlamys* Röding, 1798
Chlamys varia Linnaeus, 1758

Género *Aequipecten* Fischer, 1886
Aequipecten opercularis (Linnaeus, 1758)

Género *Pecten* Müller, 1776
Pecten maximus Linnaeus, 1758

1.2 Características biológicas

1.2.1 Anatomía externa

Anatomía externa de *Chlamys varia* (Zamburiña)

La especie *C. varia* se caracteriza por presentar una concha inequivalva con dos valvas convexas inequilaterales (Shafee, 1980), siendo algo menos convexa la derecha o inferior (Fig. 1.3.A). La forma de la concha es ovalada y el color de las valvas puede variar desde blanquecino a naranja, marrón o gris, y se va oscureciendo con la edad. Cada valva presenta 25-35 costillas radiales y numerosos anillos de crecimiento concéntricos, así como numerosas espinas, más desarrolladas en el margen valvar. La superficie interna de las valvas es lisa y brillante, del mismo color que la externa y en ella se encuentran la impresión del músculo aductor y los espacios intercostales. Además, presentan dos aurículas asimétricas en el margen dorsal de cada valva. La aurícula anterior es 2-3 veces mayor que la posterior y posee una profunda hendidura bisal, provista de un fuerte *ctenolium* (Burnell, 1983), ya que se fija con el biso durante toda su vida, característica que la diferencia del resto de los pectínidos. La aurícula posterior parece cortada oblicuamente.

Su vida máxima puede alcanzar los 9-10 años, llegando a medir 80 mm de altura. Tardan aproximadamente año y medio en alcanzar la talla comercial (40 mm), pudiendo superar los 52 mm (Dalmon, 1935) o incluso alcanzar los 65 mm en la Bahía de Brest, Francia (Lucas, 1965). Es una especie iterópara, capaz de reproducirse varias veces a lo largo de sucesivas estaciones, de vida larga. A medida que incrementa la latitud, incrementa la altura asintótica y la longevidad (Orensanz *et al.*, 1991).

En Galicia se conoce con el nombre de zamburiña, zamoriña, anduriña, andoriña o golondrina.

Anatomía externa de *Aequipecten opercularis* (Volandeira)

Al igual que ocurre en *C. varia*, la concha de *A. opercularis* también es inequivalva con dos valvas convexas, siendo la derecha o inferior algo menos convexa (Fig. 1.3.B.). El color que puede presentar esta especie es muy variable (Ansell *et al.*, 1991). Las valvas son prácticamente circulares, presentando cada una de ellas de 19 a 22 costillas radiales y numerosos anillos de crecimiento concéntricos. En este caso, las valvas no poseen espinas. La parte dorsal de las valvas se extiende en dos aurículas de longitud semejante, siendo ligeramente mayor la aurícula anterior, la cual presenta una reducida hendidura bisal.

Su vida máxima en las poblaciones salvajes puede alcanzar los 8-10 años. Presentan un crecimiento muy rápido y precoz, alcanzando la talla comercial (40 mm) en menos de un año de cultivo (Ramonell *et al.*, 1990; Román *et al.*, 1999; Campos *et al.*, 2001). Pueden llegar a medir hasta 80 mm de altura.

En Galicia existe cierta confusión con respecto al nombre de esta especie, ya que a nivel popular se le denomina, en la mayoría de los casos, como zamburiña, aunque en realidad es la volandeira y así debería ser su denominación.

Anatomía externa de *Pecten maximus* (Vieira)

La concha de la especie *P. maximus* es inequivalva, con la valva derecha o inferior muy convexa y la izquierda (superior) plana o cóncava y de mayor tamaño (Fig. 1.3.C.). Esta última suele ser más oscura (roja o marrón) y poseer más dibujo en la concha que la inferior, que suele ser blanquecina. También pueden ocasionalmente encontrarse ejemplares albinos. La forma de la concha es circular, con los bordes afilados y ondulados, y con dos aurículas simétricas en la parte superior de cada valva. Cada una de las valvas presenta 15-17 costillas radiales redondeadas y numerosos anillos de crecimiento concéntricos muy marcados (Román *et al.*, 2001a).

Su vida máxima puede alcanzar los 20 años (Minchin, 1978). Es una especie de crecimiento lento, ya que tardan aproximadamente 4 años en alcanzar la talla comercial (10 cm), pudiendo llegar a medir hasta 15 cm. En cultivo en suspensión realizado en las bateas de las rías gallegas, la vieira puede alcanzar la talla comercial en 24-30 meses (Román *et al.*, 1987). Es, sin duda, la mayor de las 3 especies descritas anteriormente.

En Galicia es conocida como vieira, peregrina o aviniera.

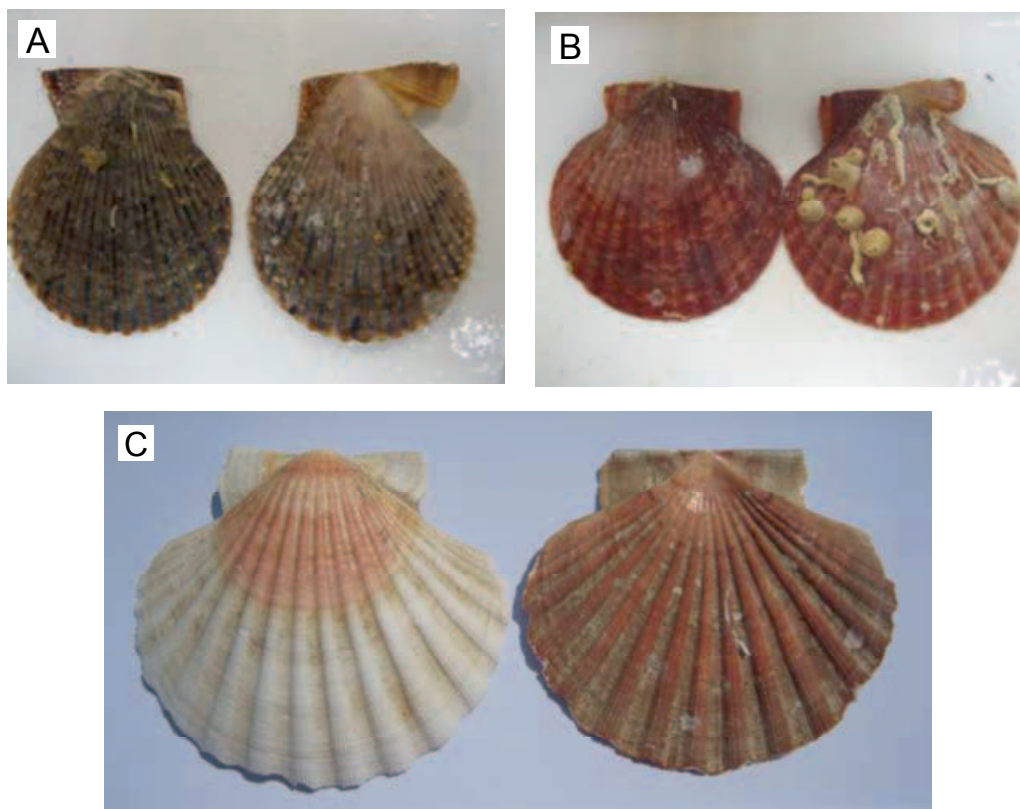


Fig. 1.3. Anatomía externa de los pectínidos de interés comercial de las rías gallegas. A) *Chlamys varia*, B) *Aequipecten opercularis*, C) *Pecten maximus*.

1.2.2 Anatomía interna

Anatomía interna de *Chlamys varia*

En la anatomía interna de *C. varia* se pueden diferenciar una serie de estructuras que se encuentran comprimidas lateralmente (Puyana & Velasco, 2008; Fig. 1.4. y Fig. 1.5.A). El manto es el tejido situado en la parte más externa y recubre todas las demás estructuras. En el margen dorsal anterior se sitúa el pie. Junto a él está la boca, rodeada de los palpos labiales, que desembocan a través de un corto esófago en la glándula digestiva. Esta glándula consiste en una estructura grande y de color marrón-negruzco, donde se localiza el estómago. La parte anterior del intestino se encuentra en el interior de la gónada, mientras el intestino posterior atraviesa la cavidad pericárdica para finalizar en el ano, que está localizado en la parte posterior del músculo aductor. La pequeña cavidad pericárdica se sitúa en la parte dorsal posterior y está unida a un par de riñones de color marrón. La gónada, que puede tener un color variable desde crema hasta naranja, es una glándula acinosa constituida por una porción anatómicamente separada y otra que se extiende dorsalmente envolviendo los palpos labiales, la glándula digestiva, el pie y la glándula del biso. El músculo aductor presenta color blanco y su principal función consiste en mantener unidas las 2 valvas. Por último, situadas ventralmente respecto al músculo, se encuentran las branquias, que poseen un gran tamaño y color naranja.

Anatomía interna de *Aequipecten opercularis* y *Pecten maximus*

La anatomía interna de *A. opercularis* y *P. maximus*, presenta una distribución muy semejante a la de la zamburiña, con la diferencia de que la gónada de estas dos especies es un órgano impar bicolor totalmente diferenciado, en el cual se pueden distinguir dos zonas: una zona distal femenina de color variable entre el naranja y el rojo, siendo más

oscura y rojiza en el caso de la volandeira y una zona proximal masculina, de color crema (Fig. 1.5.B y C.).

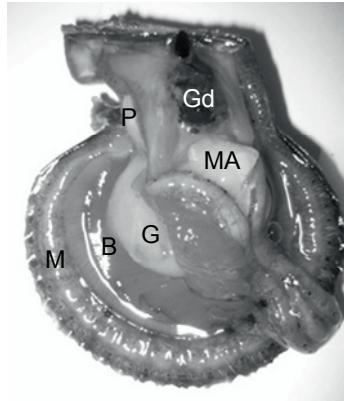


Fig. 1.4. Principales estructuras de la anatomía interna de un pectínido, *C. varia*. Gd: glándula digestiva, MA: músculo aductor, G: gónada, B: branquias, M: manto, P: pie.



Fig. 1.5. Gónadas de los pectínidos estudiados A) Gónada de *C. varia*, B) Gónada de *A. opercularis*, C) Gónada de *P. maximus*.

1.3 Distribución y hábitat

Distribución y hábitat de *Chlamys varia*

Esta especie se distribuye a lo largo de la costa este del Atlántico norte, Mediterráneo y a lo largo de la costa Atlántica de África hasta Senegal. Se extiende por el sur de Noruega, sur de Suecia y Dinamarca, costa occidental de Gran Bretaña, en bahías protegidas del litoral occidental de Irlanda (Burnell, 1983; Waller, 1991), así como en la Bahía de Brest en Francia, costa nordeste de la Isla de Ré, entre la Isla de Oléron y el continente y en la cuenca de Arcachon (Letaconnoux & Audouin, 1956). En el mar Adriático, a lo largo de la costa de Eslovenia, Croacia, Bosnia y Herzegovina, Montenegro hasta Macedonia (Renzoni, 1991; Zerlic, 2001; Fig. 1.6.).

Su hábitat natural es el límite mesolitoral y el infralitoral. Su rango batimétrico es de 0-50 metros (De la Roche, 2008). Habita aguas limpias con alta salinidad, ligada a sustratos irregulares duros, paredes de roca cubiertas de limo, o en fondos arenosos asociada a sedimentos de algas, a otros moluscos, ascidias, hidrozoos, briozoos, cirrípedos, poliquetos, cangrejos y equinodermos. Se encuentra en lugares con temperatura no muy elevada y corrientes moderadas, prefiriendo zonas protegidas, poco expuestas al oleaje (Lucas, 1965). Se fija sólidamente a las hendiduras rocosas mediante el biso. Hily & Le Foll (1990) señalan que las poblaciones son gregarias y que se distribuyen en bancos

formados normalmente por individuos de la misma edad y generalmente acompañados de otras especies. Las zamburiñas jóvenes se suelen refugiarse en las conchas cóncavas vacías, mientras los ejemplares adultos permanecen fijados temporalmente con el biso en grupos de 3-4 individuos. Esta especie no posee la característica de enterrarse en el sedimento.

Distribución y hábitat de *Aequipecten opercularis*

El área de distribución de la volandeira se extiende a lo largo de la costa este del Atlántico norte, desde Noruega hasta la Península Ibérica, así como al oeste de África, Azores, Canarias, Madeira, extendiéndose también por todo el Mediterráneo y Adriático (Mason, 1983; Fig. 1.6.).

Su rango batimétrico es mayor que el de la zamburiña, apareciendo en el rango de 0-180 metros, siendo más abundantes entre los 40-60 metros. Habita aguas con alta salinidad, poca turbidez y elevada concentración de oxígeno y está asociada a una gran variedad de fondos, sobre todo sustratos duros (desde arena fina a grava y conchas). Se encuentra en lugares con temperatura no muy elevada ($< 20^{\circ}\text{C}$) (Román *et al.*, 1999) y con corrientes fuertes, a menudo en altas densidades. Se fija suavemente al fondo y no se entierra. Las poblaciones son gregarias y se distribuyen en bancos mixtos. En Galicia es abundante en la zona media y externa de las Rías Bajas (Ramonell & Malvar, 1993a).

Distribución y hábitat de *Pecten maximus*

Se distribuye a lo largo de la costa este del Atlántico norte, desde Noruega a Marruecos, extendiéndose también por el Mediterráneo hasta el Mar de Alborán (30°N hasta 70°N). (Fig. 1.6.).

Su rango batimétrico es de 0-200 metros, siendo más abundante de los 10 a los 40 metros (Mason, 1983). Habita aguas con pocas variaciones de salinidad, siempre mayores de 30 psu (Strand *et al.*, 1993), generalmente frías ($8-16^{\circ}\text{C}$), claras, con altas concentraciones de oxígeno y con una velocidad de corriente adecuada para proporcionar suficiente alimento y oxígeno. Se encuentra en la zona litoral, sobre fondos de sedimento blando, sin mucho fango, aunque también se da en fondos coralinos, sobre conchas, rocas o guijarros. Su forma de vida implica excavación y ocupación de una depresión, así, la valva superior plana queda al nivel de la superficie del sedimento y el animal se camufla con la capa de sedimento que acumula dicha valva. De esta manera, evita la depredación y previene el crecimiento de algas, crustáceos, poliquetos y otros moluscos sobre sus valvas. Las poblaciones son gregarias y se distribuyen en bancos mixtos, observándose en general bajas densidades de población.



Fig. 1.6. Mapa de distribución de la volandeira, la zamburiña y la vieira.

1.4 Área de estudio

La Comunidad Autónoma de Galicia se encuentra situada en el extremo noroeste de la Península Ibérica (Fig. 1.7.). Abarca una superficie total de 29.574 km² y más de 1.200 kilómetros de costa, repartidos entre el Océano Atlántico y el Mar Cantábrico (Xunta de Galicia, 2007), y es una de las regiones marinas más productivas del mundo.

La ría es el sistema característico del litoral gallego. Se trata de una formación estuárica más larga que ancha, que se originó por la prolongación de un sistema hidrográfico cuyo valle fue parcialmente anegado por el mar. Las rías son ecosistemas altamente productivos desde el punto de vista biológico, pero también muy variables debido a la influencia de las mareas, el aporte de los ríos y los episodios de afloramiento-hundimiento de nutrientes oceánicos (Fraga, 1996). Los fenómenos de afloramiento, determinan que las rías dispongan de un abono natural muy importante, constituido principalmente por nitratos y fosfatos. Estos nutrientes, que proceden de las aguas oceánicas, ya en el interior de las rías, van ascendiendo desde los niveles más profundos hasta las capas más superficiales entre marzo y octubre. Los vientos de componente norte peinan las capas superficiales más calientes de las rías, enfriándolas y facilitando su descenso a capas más profundas. Estos fenómenos de afloramiento específicos de las rías catalogan al sustrato marino gallego como óptimo por sus valores físico-químicos para el desarrollo de los moluscos bivalvos. Destaca su alta concentración de O₂, entre los 5 y los 7 ml por litro y su elevada productividad con valores medios de 0,8 g C/m²/día.

La vinculación de las rías gallegas con la acuicultura es un hecho histórico e indiscutible. El 96,81% de la acuicultura gallega está dedicada al cultivo de moluscos bivalvos, y el 95,17% se dedica plenamente al cultivo del mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) en batea. El cultivo de esta especie alcanzó una producción de 212.000 Tm en el año 2010, lo que supuso un beneficio de unos 87 millones de euros (Xunta de Galicia, 2010). Debido a ello, Galicia es la primera productora europea de mejillón y la segunda a nivel mundial, después de China. Hoy en día existen en las rías gallegas 3.337 bateas dedica-

das al cultivo de mejillón que hacen de nuestra comunidad una potencia acuícola a nivel mundial (<http://www.mejillondegalicia.tk/>).

A continuación, se describen brevemente las principales características de las rías dónde se realizó el estudio y se localizan las zonas de muestreo.

Ría de Pontevedra

Tiene una superficie de 145 km² y una longitud de 23 km, alcanzándose las mayores profundidades (40 m) en la entrada sur. Está formada por el río Lérez y su boca está parcialmente protegida por las Islas de Ons y Onza (Fig. 1.8.A.). Su forma es de embudo, con orientación de su eje mayor SO-NE, excepto en la ensenada de Aldán, cuya orientación es N-S. La circulación en esta ría presenta un patrón antihorario predominante. Se observa un flujo neto de entrada de agua marina siguiendo la costa sur y de salida por la costa norte, con giros de corrientes en las ensenadas de Bueu y Sanxenxo (Durán *et al.*, 2000). Predomina la circulación estuárica positiva con entrada de agua rica en nutrientes por el fondo y salida de agua superficial empobrecida, salvo en determinados momentos y zonas muy limitadas (Domínguez, 1982). Tiene 7 polígonos de mejillón y concentra el 10,37 % de todas las bateas existentes (Labarta *et al.*, 2004).

Ría de Arosa

Es la mayor de las rías gallegas, con una superficie de 230 km², una longitud de 26 km y una profundidad máxima de 65 m. Está formada por los ríos Ulla y Umia (Fig. 1.8.B.). Es la ría que presenta unos valores más elevados de afloramiento y en consecuencia la más productiva, por poseer los valores más altos de nutrientes. El agua oceánica profunda, rica en nutrientes tiende a entrar hasta la parte más interior de manera más intensa que en las demás rías (Iglesias *et al.*, 1984). La ría posee 36 polígonos de mejillón y concentra el 68,68 % del total de las bateas (Labarta *et al.*, 2004).

Ría de Ares-Betanzos

Esta ría se divide en 4 sectores: la Ría de Ares, la Ría de Betanzos, la zona de confluencia y la zona de la boca de la ría (Sánchez-Mata *et al.*, 1999). El río más caudaloso es el Eume, seguido del Mandeo, los cuales constituyen los principales aportes de agua continental y forman los valles fluviales que dieron lugar a las rías de Ares y de Betanzos. Tiene 72 km², una longitud de 19 km, una anchura máxima de 4,7 km y una profundidad máxima de 40 m (Fraga, 1996) (Fig. 1.8.C.). El engorde de mejillón se concentra en dos polígonos de bateas situados en la orilla sur de la ría: Lorbé (107 bateas) y Arnela (40 bateas), representando el número de bateas en esta ría solamente el 3,09 % del total (Labarta *et al.*, 2004). Además, hay instalaciones para la captación de semilla de mejillón con colectores empleando long-lines en varias localizaciones: Lorbé, Arnela, Miranda y Redes.

En las Figuras mostradas a continuación se señalan las zonas de muestreo utilizadas en este trabajo, para cada una de las rías muestreadas.

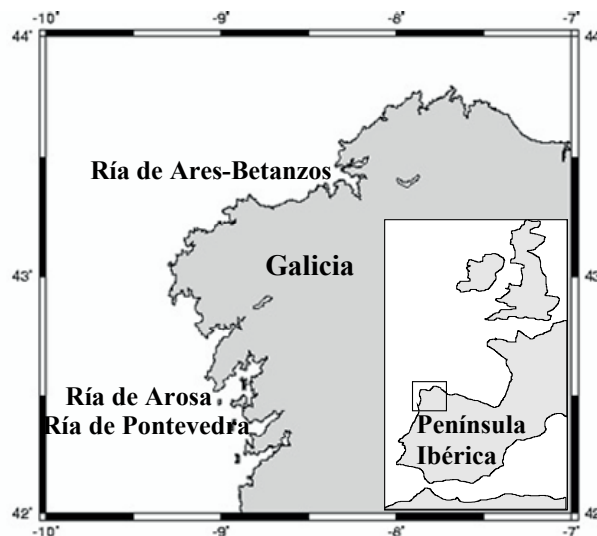


Fig. 1.7. Mapa de localización de rías gallegas donde se desarrolló el estudio.

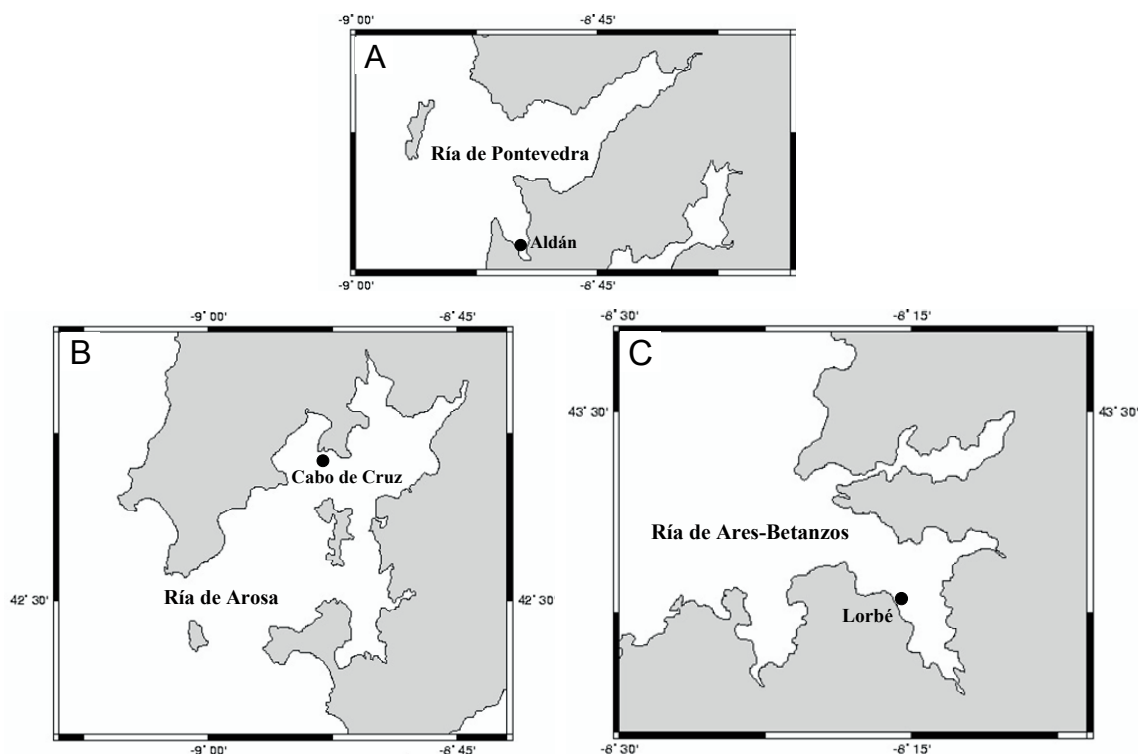


Fig. 1.8. Mapas de localización de la zona de muestreo dentro de cada ría A) Ría de Pontevedra, B) Ría de Arosa, C) Ría de Ares-Betanzos.

1.5 Antecedentes históricos y estado actual del recurso

1.5.1 Pesquerías

A nivel mundial, las especies de pectínidos de mayor interés comercial son *Patinopecten yessoensis* (Japón, Rusia y Corea), *Placopecten magellanicus* (EEUU y Canadá), *Zygochlamys patagonica* (Argentina) y *Pecten maximus* (Atlántico NE, principalmente Francia, Escocia, Irlanda e Isla de Man), siendo según datos de la FAO (2008) EEUU, Japón y Francia los mayores consumidores, generalmente en forma de productos congelados.

En España, las especies de mayor interés comercial son *Pecten maximus*, *Aequipecten opercularis* y *Chlamys varia* en Galicia; *Pecten maximus* en el Mar de Alborán; y *Pecten jacobaeus* en el Mediterráneo (Valencia y Cataluña). La producción de pectínidos española proviene principalmente de la explotación de los bancos naturales.

Las primeras citas sobre la pesca de pectínidos en Galicia se remontan al año 1870 (Graells, 1870), pero no aparecen los primeros datos de sus capturas hasta la década de los 60. Las mayores capturas se dieron a mediados de los 60, con 700 toneladas en el año 1966. Posteriormente, las capturas de pectínidos descendieron progresivamente hasta las 300 Tm/año obtenidas a principios de los años 70. La tendencia descendente continuó hasta alcanzar un mínimo de 10 Tm/año a principios de los 80. Durante los años 1985 y 1986 las capturas sufrieron un ligero ascenso hasta 58 toneladas, llegando a las 73 Tm/año en el año 1991 (Fig. 1.9.). A partir del año 1997, se comienza a disponer de datos de pesca diferenciados de las distintas especies de pectínidos (<http://www.pescadegalicia.com>; Xunta de Galicia, 2003-2010) (Fig. 1.10.). En ellos se puede observar desde el año 2005 hasta el 2010, un claro ascenso en las capturas de *A. opercularis* en las rías gallegas, pasando de 97 Tm en 2005 a 395 Tm en 2010, con un máximo de 420 Tm en 2008. La pesca de *P. maximus* también aumenta, pero a menor escala y con ciertos altibajos, pasando de obtenerse 74 Tm en 1997 a 153 Tm en 2010, con un máximo de 226 Tm en 2007. En el caso de *C. varia*, únicamente se dispone de datos de pesca durante los años 2009 y 2010, cuando se capturaron 1,7 y 0,8 Tm respectivamente. Estas pequeñas cantidades ponen de manifiesto, la menor importancia relativa de esta especie si se compara con los valores de pesca de los otros dos pectínidos gallegos con interés comercial.

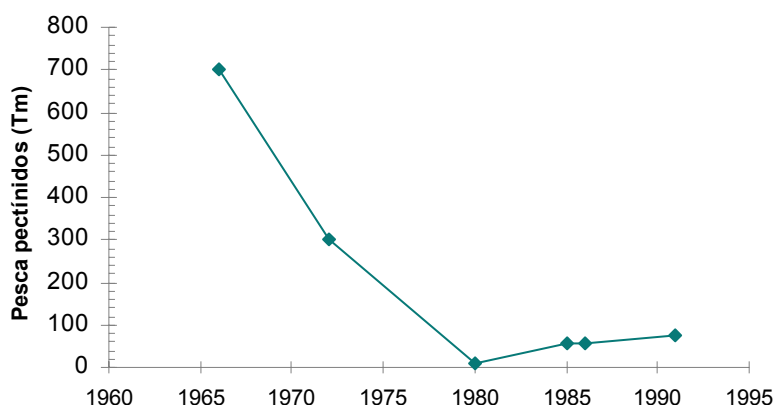


Fig. 1.9. Pesca de pectínidos (expresada en Tm/año) en Galicia durante los años 1966-1991.

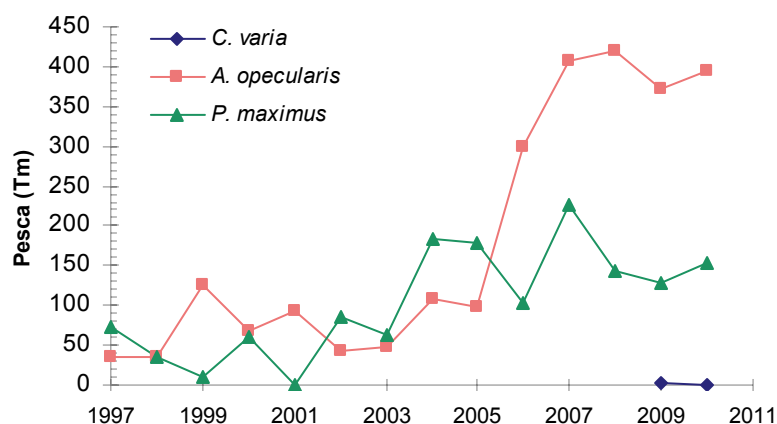


Fig. 1.10. Evolución de la pesca de pectínidos (Tm/año) por especie en Galicia durante los años 1997-2010.

La pesca tradicional de las especies de pectínidos gallegos de interés comercial se realiza generalmente desde embarcaciones “a flote”, empleando el “rastreo” o “endeño de vieira” para las tres especies, aunque en el caso de la volandeira, también es habitual capturarlas con el arte de arrastre denominado “bou de vara”. La talla mínima de captura es de 4 cm de altura de la concha para *C. varia* y *A. opercularis* y de 10 cm en *P. maximus*, ya que se considera que tallas inferiores pueden presentar todavía gónadas inmaduras (Dalmon, 1935). En la actualidad, las poblaciones de *C. varia* en Galicia son muy escasas y a nivel nacional tampoco existe una pesquería comercial desarrollada de zamburiña. En el caso de la volandeira, la época de captura en nuestras costas se extiende de septiembre a mayo. La vieira es la especie de pectínido de mayor interés comercial en Europa, siendo explotada en las costas francesas, británicas y españolas. En Galicia la veda de esta especie va desde marzo a octubre.

1.5.2 Pectinicultura

Los pectínidos son moluscos muy apreciados en todo el mundo por su importante valor gastronómico, excelente calidad y elevado índice de biomasa muscular, siendo un importante recurso económico desde China (Guo & Luo, 2006), Japón (Ito, 1991) a Canadá (Naidu, 1991) o Chile (Avendaño, 1993). Existen otras características biológicas que determinan que estos moluscos sean excelentes candidatos para su cultivo, como es su alta fecundidad, su naturaleza gregaria, su alta tasa de crecimiento o el alto contenido proteico y bajo en grasas que presentan sus tejidos.

Independientemente de sus características biológicas favorables, es frecuente que sus bancos naturales a menudo disminuyan drásticamente, por estar sometidos a la sobreexplotación pesquera, cambios ambientales, contaminación o reclutamiento irregular. Por este motivo, uno de los objetivos de esta tesis es evaluar las posibilidades de cultivo de éstas especies. Además, la pectinicultura podría compensar la estacionalidad de los pectínidos de las poblaciones naturales, con la posibilidad de disponer de una oferta continua de producto de cultivo durante todo el año.

La pectinicultura comenzó a desarrollarse experimentalmente a partir de los años 1960 en Japón, mientras que en Europa no se dan las primeras citas hasta finales de la década de los 70 (Buestel & Dao, 1979). En la actualidad se producen aproximadamente 1,4 millones de Tm de pectínidos en el mundo mediante acuicultura, de las cuales, China

produce aproximadamente 1,14 millones de Tm, Japón 226.000 Tm, Chile 21.300, Perú 14.800 y otras 1.000 Tm en el resto de los países (FAO, 2008).

Los pectínidos de las rías gallegas han sido sometidos durante años a una intensa pesquería y como consecuencia de ello a una reducción muy fuerte de los stocks naturales. Sin embargo, la pectinicultura en Galicia es muy reciente y se encuentra poco desarrollada. Durante muchos años la acuicultura marina tradicional en nuestras rías se ha dedicado principalmente a los moluscos y específicamente al cultivo del mejillón *Mytilus galloprovincialis* en bateas flotantes. Por este motivo, a lo largo de las últimas tres décadas se ha considerado prioritario diversificar la acuicultura marina de las rías, dirigiendo las actividades recientes al cultivo de peces como el rodaballo, el besugo o el lenguado. Otra vía de diversificación sería la búsqueda de otros moluscos bivalvos de máximo interés comercial, siendo los pectínidos gallegos una clara alternativa al cultivo del mejillón. El escaso desarrollo del cultivo de pectínidos en Galicia fue probablemente debido a la reducida disponibilidad de semilla salvaje, al coste elevado de la producción de semilla en criadero y a su reducido precio en el mercado cuando las capturas son abundantes.

De las 3 especies de pectínidos con interés comercial en Galicia, inicialmente solo la vieira (*P. maximus*) se cultivaba a pequeña escala en las Rías Bajas, capturando ejemplares mediante pesca artesanal y realizando su engorde en batea durante un periodo reducido de meses. De esta manera, se conseguía disponer de producto durante las épocas de veda, suministrando con este método al mercado aproximadamente unas 10-20 Tm anuales de vieira. Sin embargo, este método de cultivo dejó de realizarse cuando se comenzó a detectar la presencia de toxinas amnésicas (ASP, Amnesic Shellfish Poisoning) en nuestras rías y se observó también que la vieira presentaba una lenta tasa de eliminación del ácido domoico, en comparación con otros moluscos (Blanco *et al.*, 2006).

El cultivo de volandeira (*A. opercularis*) y zamburiña (*C. varia*) en Galicia comenzó en 1986 de manera experimental, pero su producción en nuestras costas continúa prácticamente restringida a la explotación de los bancos naturales (Labarta, 1985; Martínez Ferreira, 1998). A partir de 2007 los valores de primera venta de *A. opercularis* de cultivo aumentan considerablemente, pasando de 1,2 Tm de volandeira en 2007 a 4,4 Tm en 2010 (Fig. 1.11.). A pesar de esta tendencia ascendente en la producción acuícola de volandeira en nuestras rías, en la actualidad su acuicultura todavía no alcanza el 1,2 % del producto obtenido mediante la pesca comercial. En el caso de la zamburiña, durante los últimos años se ha obtenido una pequeña cantidad a partir de la acuicultura: 4,1 Tm en 2007; 1,7 Tm en 2008, y 3,9 Tm en 2009 (Xunta de Galicia, 2007-2010) (Fig. 1.11.). Sin embargo, debido a la tremenda reducción del stock natural observada en las rías en los últimos años, debería fomentarse especialmente la acuicultura de esta especie.

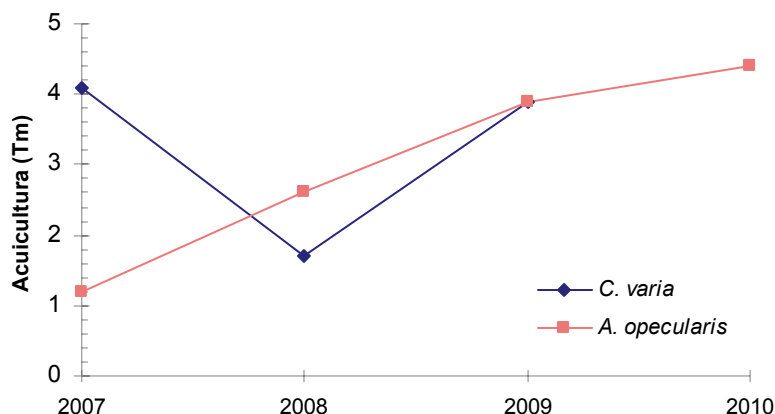


Fig. 1.11. Evolución de la producción (Tm/año) por Pectinicultura en Galicia durante los años 2007-2010.

1.5.3 Presentación del producto

Los moluscos pectínidos ofrecen múltiples posibilidades culinarias y las principales formas de comercialización que presentan en el mercado son en fresco, congelado y en conserva. En América, debido a ser un mercado muy selectivo, solamente se consume el músculo, mientras que en Europa se consume tanto el músculo como la gónada, lo que supone en el caso de la vieira 25 g por cada 100 g de producto fresco. La zamburiña según Dalmon (1935) presenta la mejor calidad para su consumo cuando las gónadas están bien desarrolladas y poseen una talla entre los 38 y 52 mm. Es un marisco de los considerados “producto de lujo”, al ser altamente nutritivo, rico en glucógeno y proteínas, además de ser pobre en grasas. La volandeira presenta gran cantidad de vitaminas A y B, sodio, hierro, fósforo, yodo y bajo contenido en colesterol. Por último, la vieira, únicamente aporta 87,1 cal/100g de músculo (Mason, 1959) y es interesante señalar que presenta el mayor contenido en potasio de todos los mariscos existentes. Aporta además valores elevados de calcio, fósforo, sodio, magnesio, hierro, vitamina B1, B2, B3, B12 y ácido fólico.



2 –Objetivos

OBJETIVOS

1. Determinar el patrón del ciclo reproductor y del ciclo de reservas bioenergéticas de *Chlamys varia* cultivada en suspensión en las rías de Galicia en función de la edad, la procedencia y el lugar de cultivo (Capítulo 3).
2. Caracterizar histológicamente el ciclo reproductor, la gonadogénesis y la gametogénesis de *Chlamys varia* cultivada en suspensión en las rías gallegas (Capítulo 4).
3. Estudiar el efecto de los parámetros ambientales asociados a la profundidad de cultivo sobre el ciclo reproductor y el ciclo de reservas bioenergéticas de *Aequipecten opercularis* y *Chlamys varia* en las rías de Galicia (Capítulo 5).
4. Valorar el uso de colectores como una fuente de obtención de semilla de pectínidos en las rías gallegas, describir el patrón de asentamiento de las especies de pectínidos con interés comercial, determinar el rendimiento de los colectores y estudiar el efecto de los predadores sobre la supervivencia de la semilla (Capítulo 6).
5. Describir la evolución morfológica de los pectínidos durante las fases de postlarva y juvenil (Capítulo 7).



3 –Ciclo reproductor y de reservas en la zamburiña (*Chlamys varia* Linnaeus, 1758)

CICLO REPRODUCTOR Y DE RESERVAS EN LA ZAMBURIÑA (*Chlamys varia* Linnaeus, 1758)

3.1 Introducción

3.1.1 Ciclo reproductor

El conocimiento del ciclo reproductor es esencial para la comprensión de la historia de vida de la mayoría de las especies, así como para la gestión de las pesquerías y el desarrollo de la acuicultura. Seed (1976), define “ciclo reproductor de una especie” a los procesos que tienen lugar de forma cíclica a partir de la activación de la gónada, durante la gametogénesis, la realización de la puesta y la recesión gonadal posterior.

El sistema reproductivo en los moluscos bivalvos es muy simple y consta de gonoductos, canales genitales principales y numerosos canales menores que desembocan en una amplia red de folículos (Sastry, 1979). La gónada de los bivalvos es un órgano impar que, en el caso de los pectínidos, se individualiza formando un conjunto que sobresale ampliamente de la masa visceral (Lubet, 1966). En general, los productos sexuales de los bivalvos son expulsados por orificios propios independientes del sistema renal, pero en el caso de los pectínidos lo hacen a través de los propios canales renales (Lubet, 1966).

El ciclo reproductor de *Chlamys varia* fue estudiado en trabajos previos en Francia (Dalmon, 1935; Lubet, 1959; Lucas, 1965; Shafee, 1980; Perodou & Latrouite, 1981), en Galicia (Parada *et al.*, 1993; De la Roche, 2008), en Málaga (De la Roche, 2008), en la Isla de Man (Reddiah, 1962) o en el oeste de Irlanda (Burnell, 1983, 1991; Ansell *et al.*, 1991).

La edad de la primera maduración o el momento en el que el 50% de la población está madura fue descrita para algunos pectínidos por Orensanz *et al.* (1991). Según Reddiah (1962), la mayoría de los pectínidos alcanzan la primera madurez gonadal con un año de edad.

La sucesión de las fases del ciclo reproductor puede ser sincrónica entre los individuos de la población, o asincrónica en el caso de que grupos de individuos realicen puestas en distintos momentos del año. Barber & Blake (1991), señalan que en las poblaciones de pectínidos, los individuos tienden a madurar y realizar la puesta sincrónicamente, pero que pueden darse variaciones en la frecuencia de la puesta, el periodo y la duración de la misma, dependiendo de las variaciones ambientales entre años o incluso entre diferentes localidades.

Los bivalvos poseen potencialmente ambos sexos y esta bipotencialidad se traduce en un hermafroditismo juvenil inicial. En el momento de la formación de la gónada aparecen generalmente en primer lugar las ovogonias y los ovocitos y posteriormente las espermatogonias y espermatozoides en esos mismos folículos; entonces tiene lugar un proceso de degeneración de los ovocitos sin llegar a alcanzar la vitelogénesis. La evolución posterior puede ser hacia el sexo masculino (♂) desapareciendo la línea celular opuesta, o hacia el femenino (♀) si los ovocitos continúan su desarrollo. Según Haag (2005), la determinación sexual está controlada por las condiciones ambientales. Por regla general se considera a *C. varia* como una especie hermafrodita protándrica o rít-

mica consecutiva, en la cual las células masculinas maduran antes que las femeninas (Dalmon, 1935), y que sufre sucesivos cambios de sexo a lo largo de la vida (Lucas, 1965).

Bayne (1976) y Kang *et al.* (2000) utilizan una clasificación para los moluscos bivalvos basada en su estrategia reproductiva. La estrategia puede ser: (1) conservadora: aquella en la cual el ciclo de almacenamiento de energía está claramente separado del ciclo reproductivo; (2) oportunista: aquella en la cual el ciclo de almacenamiento de energía y el ciclo reproductivo se realizan simultáneamente, o (3) mixta: aquella estrategia intermedia entre la conservadora y la oportunista.

Según la bibliografía, la zamburiña, es una especie oportunista que realiza la gametogénesis con independencia de las reservas energéticas, pero dependiente del alimento disponible. Así se produce el crecimiento gonadal, aumentando su peso en la primavera cuando el alimento es abundante. Sin embargo para la segunda puesta emplea las proteínas y lípidos almacenados y disminuye su peso al mismo tiempo que aumenta su peso gonadal (Burnell, 1983, 1991). Por este motivo, Burnell & Rodhouse (1980) proponen que en condiciones de escasez de alimento disponible, esta especie puede emplear las reservas metabólicas durante un período de desove prolongado.

La reproducción en los bivalvos marinos es un proceso cíclico que puede ser anual, semianual o continuo. En general, el ciclo reproductor de *C. varia* muestra un patrón bimodal (Shafee & Lucas, 1980). Sastry (1979) señala que el momento y la duración de la actividad reproductiva pueden considerarse determinados por la interacción entre diversos factores endógenos y exógenos. Para este autor el ciclo reproductor es una respuesta, genéticamente controlada, a las condiciones ambientales.

Entre los numerosos factores que regulan tanto de la reproducción como del desove se pueden destacar los siguientes parámetros (Fig. 3.1.):

Regulación exógena

Latitud

Es aceptado de forma general por la biogeografía la existencia de un patrón según el cual los periodos de puesta de las especies son más amplios cuanto más se distribuyan hacia el Sur. Esta variación en la duración del periodo reproductivo en función de la latitud, puede deberse al efecto conjunto del propio cambio de latitud y a la temperatura, ya que ambos factores varían paralelamente en un mismo sentido, y es difícil individualizar el efecto de cada uno de ellos. Además, según Lubet (1959), el periodo de puesta tiende a ser más tardío en las poblaciones situadas más al Norte.

Temperatura

La temperatura además de tener gran importancia en la distribución de las especies, también influye significativamente sobre el momento de realizar la puesta. La influencia de la temperatura en la reproducción de los invertebrados marinos ha sido ampliamente analizada en las revisiones de Orton (1920), Sastry (1966) o Loosanoff (1971), sin embargo, se continúa estudiando en mayor profundidad el efecto de este parámetro (Román & Acosta, 1990).

Se acepta de forma generalizada que las especies boreoárticas tienen una temperatura crítica por encima de la cual no se realiza la puesta; mientras que las especies de aguas

templadas o tropicales, tienen una temperatura crítica por debajo de la cual son incapaces de producir larvas (Corral *et al.*, 2000). Además, variaciones en la temperatura del agua del mar parecen inducir la puesta en numerosas especies (Lucas, 1965), aunque a medida que avanza la temporada este sincronismo parece perderse en muchas de ellas.

El proceso más directamente sometido a la regulación climática de las aguas es el ciclo gametogénico (Mackie, 1984; Lubet, 1959). Una vez iniciada la gametogénesis, la fase de crecimiento variará dependiendo de la temperatura de las aguas, actuando ésta como sincronizador de los ritmos estacionales de este proceso.

Lucas (1965) y Burnell (1983) señalan que en Francia y en Irlanda la temperatura mínima de puesta para la zamburiña era de 15 °C. Sin embargo, se demostró que puede haber excepciones, ya que al presentar una estrategia reproductiva oportunista, si las condiciones son favorables para desarrollar la gónada antes, la puesta se puede realizar incluso sin alcanzar esa temperatura mínima.

Variaciones en la temperatura de tan solo 1-2 °C, tanto si aumenta como si disminuye, pueden estimular la puesta de *C. varia*, (Burnell, 1983 y 1991). De esta manera, el número de puestas puede variar anualmente, de acuerdo con el régimen de temperatura local existente en la región estudiada.

Abundancia y disponibilidad de alimento

La relación entre la disponibilidad de alimento en el medio y el ciclo reproductor ha sido descrita en los trabajos de Sastry (1966), Bayne (1975), Pazos (1993) o Román *et al.* (1996, 2001). La cantidad de alimento disponible parece ser un factor fundamental que controla el inicio y el final del periodo reproductivo de muchos bivalvos filtradores (Mackie, 1984; Lubet, 1959). Además, se han descrito numerosos casos de sincronismo entre las proliferaciones masivas de fitoplancton y las puestas. Diferentes autores, como Burnell (1991) o De la Roche (2008), comprobaron que la gametogénesis de la zamburiña depende de la cantidad de alimento disponible, coincidiendo las puestas con picos de abundancia de la clorofila “a”. Del mismo modo, se han encontrado diferencias interanuales en la temporalidad del ciclo reproductor que han sido relacionadas con diferencias en la cantidad de alimento disponible (Shafee, 1980).

Fotoperiodo

El fotoperiodo es un mecanismo capaz de regular el ciclo reproductor en los pectínidos, ya que la relación diaria entre el periodo de luz/oscuridad varía estacionalmente de forma homogénea año tras año. Se ha demostrado que *C. varia* desarrolla la gametogénesis en épocas con 12 h de luz/día. A medida que avanza el invierno y hasta el final de la primavera, incrementa el régimen de horas de luz, coincidiendo con el inicio y el desarrollo del ciclo reproductor anual. Al finalizar el verano disminuyen progresivamente las horas de luz/día, acompañadas de un descenso en la actividad reproductora (De la Roche, 2008). La relevancia de este factor sobre el ciclo reproductor de la zamburiña fue demostrada por Louro *et al.* (2005a) al aplicar experimentalmente diferentes regímenes de fotoperiodo y obtener distintos patrones de desarrollo gonadal.

Salinidad

La influencia de la salinidad puede ser de suma importancia en los procesos de madurez sexual de los pectínidos en aquellas zonas donde se produzcan variaciones muy bruscas de este parámetro. Grandes fluctuaciones en la salinidad pueden afectar de forma importante al ciclo reproductor y de puesta de la zamburiña, aunque Navarro & González (1998), señalan que en general los bivalvos cultivables se suelen adaptar a los cambios salinos si éstos no alcanzan los límites letales característicos de cada especie.

Existen otros muchos factores exógenos que interactúan controlando en mayor o menor medida el ciclo reproductor y de puesta de *C. varia*. Estos factores según Barber & Blake (1991), pueden ser el ciclo lunar y el ciclo de mareas, las condiciones de afloramiento o “*upwelling*”, la acción de las olas o shocks mecánicos, la profundidad, la densidad, los parásitos y las enfermedades, el sustrato, la presencia de contaminantes o la competencia.

Regulación endógena

Además de los mecanismos exógenos citados anteriormente que regulan que un individuo esté en condiciones óptimas para reproducirse en la estación apropiada, el momento de la maduración de la gónada debe estar también controlado por un mecanismo endógeno. Este mecanismo de regulación temporal probablemente tiene dos componentes: un ciclo endógeno de desarrollo gonadal y un mecanismo que sincronice este ciclo con ciertos parámetros ambientales clave. Se ha demostrado que *Chlamys varia* posee un control neuroendocrino de la gametogénesis y que los ganglios cerebrales y viscerales tienen células neurosecretoras que regulan un ciclo neurosecretor (Lubet, 1955). La aparición de productos de neurosecreción es anterior al comienzo de la gametogénesis y los valores máximos de acumulación de estos productos coinciden con la maduración gamética.

Este tipo de regulación endógena también depende en gran medida del patrón del ciclo reproductor de cada especie, pudiendo formar nuevos productos de neurosecreción en cada nueva gametogénesis.

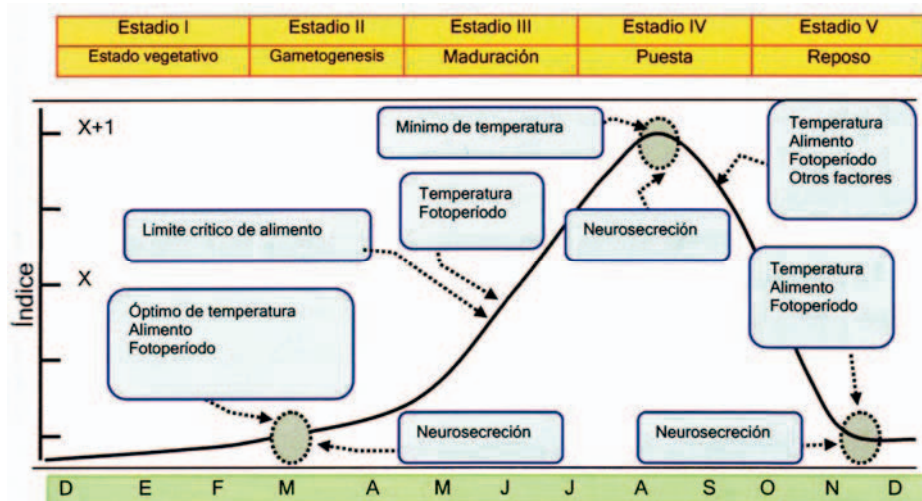


Fig. 3.1. Factores externos e internos de regulación de la reproducción en los moluscos bivalvos (De la Roche, 2008).

La existencia de un ritmo anual de reproducción tiene la función fundamental de asegurar que la liberación de los gametos en el medio ocurra cuando las condiciones medioambientales sean favorables para el rápido y correcto desarrollo de las larvas, con el fin de conseguir que el mayor número posible de descendientes sobrevivan.

3.1.2 Relación entre el ciclo reproductor y de reservas

Como se ha dicho, la reproducción en *C. varia* es un proceso fisiológico cíclico que depende de la interacción de numerosos factores, pero además, la gametogénesis es un proceso que requiere energía. La energía necesaria para poder desarrollar el proceso gametogénico puede provenir directamente del alimento ingerido o bien de las reservas almacenadas en diferentes tejidos del animal.

Al igual que sucede con el ciclo gametogénico, existen diferencias inter e intraespecíficas en los moluscos pectínidos, dependiendo de las pautas de almacenamiento y utilización de las reservas energéticas que emplea cada uno de ellos, debido, principalmente, a los factores ambientales (Pazos, 1993). Gabbot (1983) señala que el empleo de las reservas energéticas depende del alimento disponible en el medio, del estadio de desarrollo gonadal y de la actividad metabólica general de la especie.

C. varia presenta un ciclo estacional de almacenamiento y movilización de reservas energéticas, fundamentalmente de glucógeno, que se correlaciona con el ciclo reproductivo anual y con la disponibilidad de alimento (Lubet, 1959; Barber & Blake, 1991). Este ciclo de almacenamiento y utilización de reservas en la zamburiña está íntimamente relacionado con el ciclo reproductor y es un factor regulador tanto de la reproducción como de la producción de gametos.

Los bivalvos poseen la capacidad de almacenar nutrientes (glucógeno, lípidos y proteínas) en tejidos especializados (músculo, glándula digestiva y, en algunos casos, manto), para satisfacer las demandas metabólicas de la gametogénesis. Además de dichos tejidos, en los moluscos bivalvos marinos también existen diferentes tipos de células somáticas que almacenan y movilizan nutrientes (energía), como son las células vesiculares (VC, vesicular cells), almacenadoras de glucógeno y, en algunos grupos como los mitílidos, también las células adipogranulares (ADG), que almacenan proteínas, lípidos y glucógeno (Pipe, 1987; Lenoir *et al.*, 1989). El tejido de reserva de los lamelibranquios se llama impropriamente tejido conjuntivo y deriva probablemente de la presencia de los amebocitos (Herlin-Houtteville, 1974). La opinión generalizada es que algunas familias, como la familia Pectinidae, no presentan células especializadas en el almacenamiento de energía en la gónadas (Strohmeier *et al.*, 2000), como si se han encontrado en las gónadas de otros bivalvos (Mathieu & Lubet, 1993). En consecuencia en los pectínidos se implican a las células musculares (no especializadas), como las responsables del almacenamiento de reservas proteicas (Epp *et al.*, 1988). Sin embargo la presencia o no de VC en *Chlamys varia* se discutirá en profundidad más adelante, en el capítulo de histología del ciclo reproductor de esta especie.

Los pectínidos emplean parte de sus reservas en el desarrollo gonadal y en la gametogénesis (Ansell, 1978), por lo que, los nutrientes liberados son absorbidos por pinocitosis por las células germinales (Herlin-Houtteville, 1974). La liberación se realiza de forma progresiva durante la formación de los gametos y las reservas energéticas se crean durante los estadios de reposo sexual. Esta energía guardará, por lo tanto, una relación directa con la cantidad total de gónada generada, así como con la velocidad del desarrollo gonadal. Existe una relación somático/germinal que determina una dependencia más o menos directa de la gametogénesis con la disponibilidad de nutrientes en el medio. Los cambios reproductivos que se producen en los invertebrados marinos se asocian a la translocación de componentes bioquímicos entre el tejido somático y los órganos repro-

ductores (Giese, 1959). Además, Brokordt & Guderley (2004) sugieren que las reservas energéticas en diferentes pectínidos, especialmente las almacenadas en el músculo aductor, además de contribuir al desarrollo gonadal, cubren el desgaste energético producido durante la puesta.

Las especies de la familia Pectinidae, al poseer una gónada bien diferenciada del resto de su anatomía, constituyen una herramienta idónea para el estudio del balance energético entre la actividad reproductiva, el crecimiento y la formación de tejidos de reserva. La gónada de estas especies puede alcanzar un gran tamaño, llegando incluso a ser el mayor de los órganos internos, lo que supone una gran inversión energética en el proceso de reproducción (Barber & Blake, 1991).

La relación entre el ciclo de almacenamiento de energía y el ciclo reproductor varía dependiendo de la estrategia o modo reproductivo de la especie. Cuando las gónadas están vacías, la energía se emplea en el crecimiento somático y/o almacenamiento. Cuando la gónada crece o se reconstruye, el aporte de energía puede venir del alimento o bien de las reservas almacenadas y esta energía se reparte entre el crecimiento gonadal y el mantenimiento somático. Esta competencia por los recursos energéticos entre el crecimiento somático y el gonadal así como el reparto de la energía entre los dos procesos, son puntos sumamente importantes en la historia de vida de los pectínidos.

Existen diferentes mecanismos de aporte de energía para ser utilizada en la gametogénesis a partir de las reservas energéticas (Fig. 3.2):

- Transferencia directa de lípidos (triglicéridos) desde la glándula digestiva hacia la gónada.
- Conversión de carbohidratos (glucógeno) acumulados en el músculo aductor en lípidos para la gónada, mediante un ciclo de Krebs similar al de los vertebrados.
- Como última alternativa, el catabolismo de las proteínas almacenadas en el músculo aductor, puede permitir la síntesis de lípidos muy abundantes en el vitelo de los ovocitos (Lubet, 1959; Gabbot, 1975).

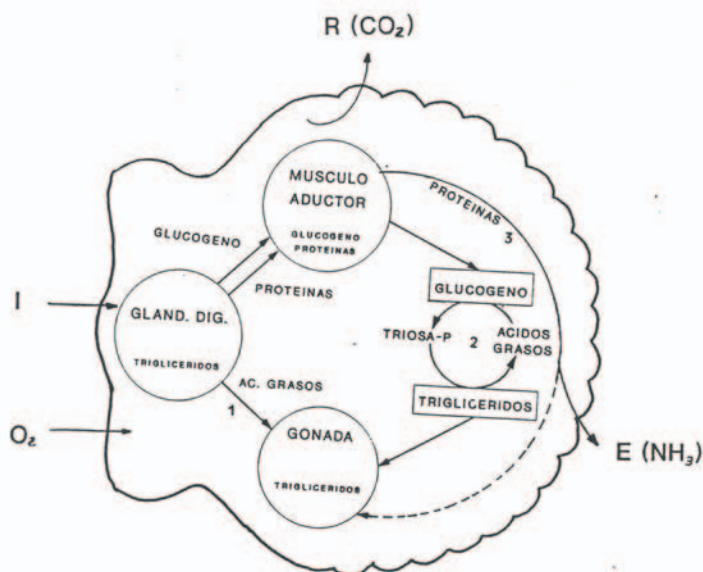


Fig. 3.2. Esquema de las rutas metabólicas que suplen las demandas energéticas durante el desarrollo gametogénico (Barber y Blake, 1991).

En cuanto al orden de liberación de los nutrientes almacenados, la mayor parte de los estudios señalan que al inicio de la gametogénesis son requeridos en primer lugar los lípidos, progresivamente se va descargando el glucógeno y, en último lugar, son liberadas las proteínas (Mestre, 1992).

Todo ello indica que los ciclos de puesta de los pectínidos están relacionados con los cambios en la composición bioquímica y el peso del músculo aductor y de la glándula digestiva (Barber & Blake, 1991).

En consecuencia, el índice de condición gonadal (ICG) constituye una herramienta muy útil para la descripción del ciclo reproductor de los bivalvos marinos que presentan gónadas bien diferenciadas. Este índice aumenta en el periodo de gametogénesis y maduración, y disminuye durante la puesta (Gosling, 2007), existiendo una correlación más o menos inversa entre el desarrollo de la gónada y la evolución del tejido de reserva (Lubet, 1959).

Las variaciones estacionales del peso de los tejidos somáticos, muestran las partes del cuerpo donde tiene lugar la acumulación de reservas. Los índices de condición de los tejidos somáticos empleados principalmente en los estudios reproductivos de los bivalvos son el del músculo aductor (IM) y el de la glándula digestiva (IGD). Un incremento en el peso del tejido y por tanto en el valor de su índice, indica la acumulación de sustancias y un descenso su utilización (Villalejo-Fuerte *et al.*, 2005).

En épocas de abundancia de alimento en el medio, algunos pectínidos almacenan lípidos en la glándula digestiva y glucógeno en el músculo aductor para ser utilizadas posteriormente en el desarrollo gonadal. Este almacenamiento de lípidos y glucógeno ha sido descrito por varios autores para diversas especies de pectínidos (Barber & Blake, 1981; Lubet *et al.*, 1987; Román *et al.*, 1996; Pazos *et al.*, 1997). Sin embargo, las proteínas constituyen el principal componente estructural de las células, y pueden actuar también como reservas energéticas en periodos de escasez de nutrientes en el medio y niveles de carbohidratos bajos (Barber & Blake, 1981).

En *C. varia* son pocas las descripciones sobre el ciclo de almacenamiento y uso de las reservas energéticas. En la costa francesa e irlandesa, Shafee (1981) y Burnell (1983), observan que en un primer periodo de puesta de primavera, cuando los nutrientes en el medio son abundantes, la zamburiña transforma principalmente estos nutrientes en energía gonadal. Sin embargo, durante la puesta de otoño, cuando el nivel de alimento disponible en el medio es inferior, tiene lugar una importante transferencia de energía desde el tejido somático hasta el reproductor.

En las poblaciones de *C. varia* de las rías gallegas, De la Roche (2008) observa como el crecimiento de la gónada en primavera y a finales de verano parece estar sustentado por el alimento disponible en el medio, y señala que la transferencia de energía entre los tejidos somáticos y la gónada en Galicia parece darse únicamente durante la primavera-verano, cuando las puestas son muy intensas, y el crecimiento gonadal no puede ser sustentado exclusivamente por el alimento disponible en el medio.

En Málaga, este mismo autor señala que el desarrollo gonadal de *C. varia* ocurre fundamentalmente a expensas del alimento disponible en el medio, salvo en el último periodo de puesta, en junio, cuando las reservas almacenadas en los tejidos somáticos

también juegan un papel importante en el desarrollo gonadal y la puesta. En verano, el tejido somático acumula reservas energéticas para cubrir las demandas metabólicas de otoño y, posiblemente, para iniciar el siguiente ciclo anual. Además, destaca el papel de las reservas almacenadas para cubrir el desgaste energético producido durante las puestas.

El objetivo global de este estudio consiste en describir el ciclo reproductor y de reservas de *Chlamys varia* empleando la evolución de los índices de condición de la gónada y de los tejidos de reserva, utilizando para ello ejemplares de *C. varia* de distintas edades y procedencias (salvajes, de hatchery) cultivados en suspensión en dos rías gallegas, para:

- Observar si existen diferencias en función de la edad, la procedencia y el sitio de cultivo.
- Situar los estudios histológicos que posteriormente se describirán en el contexto del ciclo reproductivo.
- Confirmar o definir nuevos patrones en el ciclo reproductor y en el ciclo de almacenamiento-utilización de la energía de esta especie en Galicia.

3.2 Material y métodos

3.2.1 Sistema de cultivo

Las zamburiñas que se emplearon para el estudio de la reproducción se cultivaron en cestas mantenidas en suspensión en una batea, según se muestra en el esquema adjunto.



Fig. 3.3. Esquema de montaje de las cestas de cultivo.

Condiciones de cultivo

La profundidad (condiciones del hábitat) y la densidad del cultivo (competencia por alimento y espacio) son factores que afectan al crecimiento de los pectínidos.

Con el fin de poder comparar los resultados obtenidos con los tres lotes de animales empleados, todo el material experimental se mantuvo a 7,5 m de profundidad.

En nuestro caso, las densidades de cultivo empleadas variaron dependiendo del tamaño inicial de los ejemplares. En general, la densidad se mantuvo entre un 30 y un 40 % de cobertura. Así, la semilla se cultivó inicialmente a 240 ejemplares por cesta disminuyendo la densidad paulatinamente hasta 60 ejemplares por cesta cuando los ejemplares tenían 35 mm de altura. Esta densidad ya no se varió hasta el final de las experiencias.

3.2.2 Material biológico

El estudio del ciclo reproductor y de reservas de la zamburiña, se realizó con ejemplares cuyo origen es el siguiente:

- a) Una población adulta recogida de las cuerdas de cultivo de mejillón.
- b) Una población producida en criadero (“hatchery”).
- c) Una población obtenida mediante el empleo de colectores.

Experiencias realizadas:

- a) En el experimento llevado a cabo con la población salvaje de zamburiñas, se partió de ejemplares adultos con una talla media de 40,7 mm y una edad inicial de 18 meses, recogidos el 29 de noviembre de 2006 en las cuerdas de cultivo de mejillón de una batea situada en Sada, en la zona II de la Ría de Ares y Betanzos.
- b) Parte de esta población fue trasladada para su cultivo en cestas en suspensión a la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé, ZML) y otra parte en la Ría de Arosa (Cabo de Cruz, ZMCC) (Fig. 3.4.). A partir de ese momento, los muestreos fueron quincenales en ambas rías, realizándose la disección de 20 ejemplares y el cálculo de los índices de condición correspondientes. En Lorbé los muestreos comenzaron el 1 de diciembre de 2006 y finalizaron el 30 de septiembre de 2008 (18-40 meses); y en Cabo de Cruz se iniciaron el 1 de diciembre de 2006 y finalizaron el 29 de noviembre de 2007 (18-30 meses) (Fig. 3.5.).
- c) De forma paralela a la anterior se realizó una segunda experiencia empleando una población producida en hatchery (ZH), induciendo el desove en el laboratorio del IEO de A Coruña el 10 de enero del 2006. La semilla fue transportada al mar para su cultivo en suspensión en Lorbé (Ría de Ares-Betanzos), durante los meses de abril-junio de 2006.
El experimento comenzó el 28 de junio de 2007 (talla media de 13,8 mm, edad 14 meses), y finalizó el 1 de septiembre de 2008, cuando las zamburiñas tenían una edad de 29 meses (Fig. 3.4.). Los muestreos se llevaron a cabo con una periodicidad de 15 días empleando 30 zamburiñas por muestra (Fig. 3.6.).
- d) En la tercera experiencia fueron empleadas zamburiñas captadas mediante colectores (ZC) durante el verano de 2007, con una talla media de 18 mm y una edad inicial de 8 meses. El estudio comenzó el 25 de febrero de 2008 y finalizó el 2 de diciembre del mismo año (8-18 meses) (Fig. 3.4.). Se realizaron muestreos quincenales, de 25 ejemplares (Fig. 3.7.).

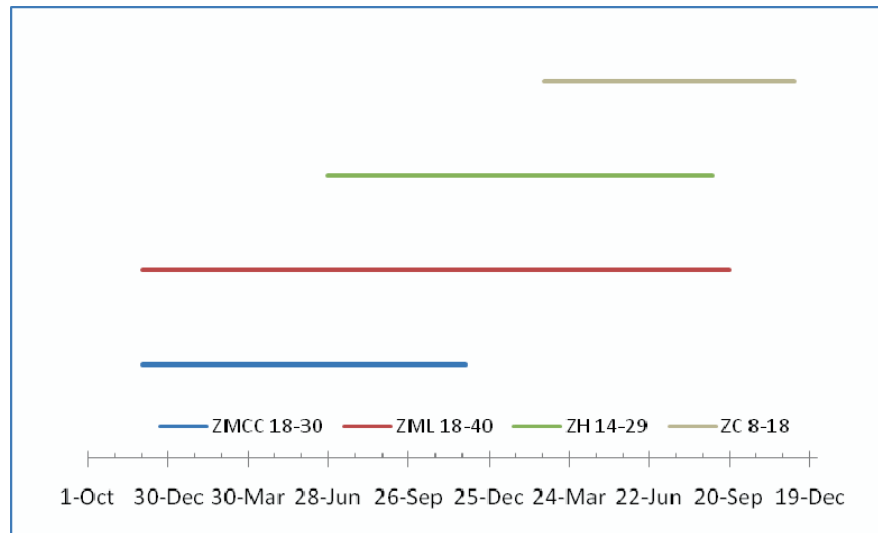


Fig. 3.4. Período de muestreo y edad de las zamburiñas.

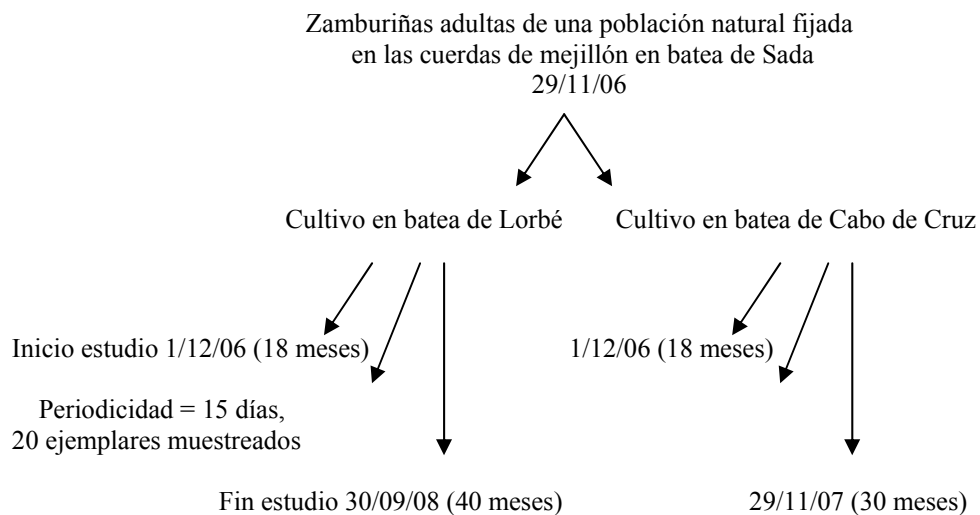


Fig. 3.5. Estudio del ciclo reproductor y de reservas de *Chlamys varia* procedente de una población natural adulta y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos y en la Ría de Arosa.

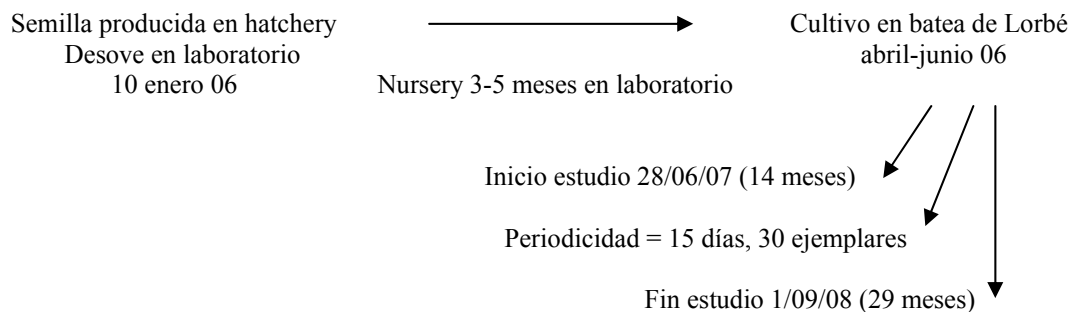


Fig. 3.6. Estudio del ciclo reproductor y de reservas de *Chlamys varia* producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos.

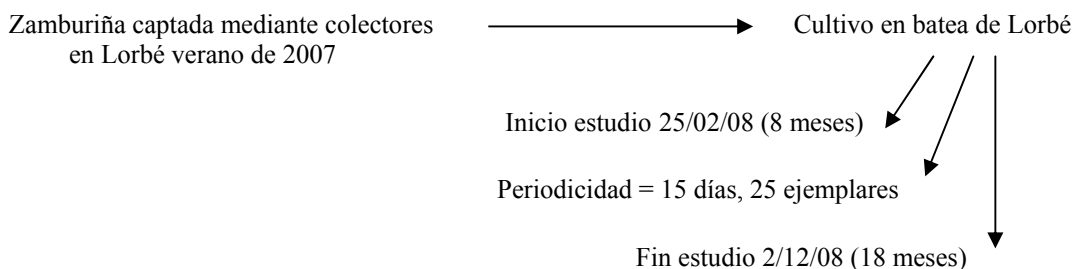


Fig. 3.7. Estudio del ciclo reproductor y de reservas de *Chlamys varia* captada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos.

Proceso de disección

Para la realización de las disecciones, las muestras se transportaron hasta el laboratorio. En cada disección se registraron las dimensiones de los ejemplares muestreados: la longitud y la altura de la concha, mediante el empleo de un calibre “General Tools” con escala métrica en el vernier con 0,1 mm de error. Siendo la longitud la distancia entre los márgenes anterior y posterior de la concha, y la altura la distancia dorso-ventral (Fig. 3.8).

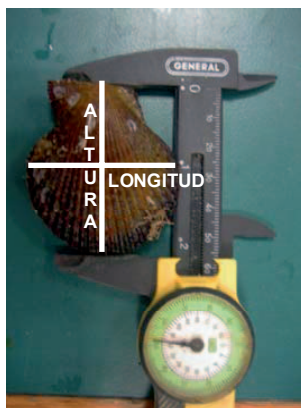


Fig. 3.8. Principales dimensiones de la concha de *Chlamys varia*.

El peso de las zamburiñas se estimó con concha incluida, por medio de una balanza Mettler, modelo “PE 360 Delta Range” de 3 decimales.

Una vez medidas y pesadas, se realizó la disección de cada uno de los individuos. Para ello se empleó el método descrito por MacPhail (1954) (Fig. 3.9.). Este proceso consta de 3 etapas, (a) sujetar el pectínido con la mano izquierda y el bisturí en la derecha, insertar el bisturí por la apertura bisal moviendo arriba-abajo sobre la superficie interna de una de las valvas, de manera que se vaya cortando el músculo aductor, separando las conchas y soltando así el manto y la masa visceral; (b) apoyar sobre la palma de la mano izquierda la otra valva y raspar con el bisturí la superficie interna de la misma, desprendiendo el conjunto visceral; (c) y por último separar la gónada (eliminándole en la medida de lo posible el estilo cristalino por presión), glándula digestiva, músculo aductor y tejidos remanentes (branquias, pie, manto) mediante el empleo de pinzas y tijeras.

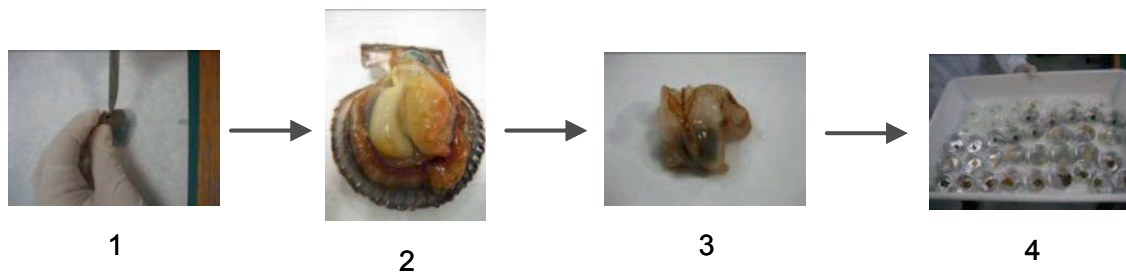


Fig. 3.9. Disección de zamburiña 1. Introducción del bisturí 2. Anatomía interna de la zamburiña 3. Desprendimiento del conjunto visceral 4. Separación de órganos.

Tras haber extraído los diferentes órganos (gónada, glándula digestiva y músculo aductor), se calcularon los datos de peso húmedo y peso seco. Para el secado se mantuvieron 24 h en una estufa “SUPER Serving Science” a la temperatura de 100°C. Además, se pesaron las conchas secadas a temperatura ambiente durante 48 h. Con estos datos se calcularon posteriormente los índices de condición gonadal (ICG), de la glándula digestiva (IGD) y del músculo aductor (IM).

3.2.3 Cálculo de índices

Los índices de condición son los más empleados en el estudio del crecimiento y la reproducción en invertebrados marinos (Grant & Tyler, 1983). La relación entre el peso seco del tejido y el peso seco de la concha es un índice universal. Este índice elimina el sesgo producido por las variaciones en el contenido en agua del tejido e indica el estado fisiológico del animal, el estrés y la actividad sexual. Si su valor es bajo indica un mayor esfuerzo biológico (Lucas & Beninger, 1985).

El contenido en agua varía estacionalmente y entre los distintos tejidos, por lo que fue empleado el análisis de los índices con pesos secos. El índice de condición gonadal (ICG) es el método cuantitativo más empleado para estimar el grado de madurez gonadal en los pectínidos.

Peso seco Gónada (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. ICG (%) = (G/C) x 100
 Peso seco Glándula (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. IGD (%) = (GD/C) x 100
 Peso seco Músculo (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. IM (%) = (M/C) x 100

3.2.4 Tratamientos estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

Para el procesamiento de los datos, tanto del índice de condición gonadal como de los índices de los tejidos somáticos (glándula digestiva y músculo aductor), se utilizaron tests no paramétricos debido al incumplimiento de las condiciones necesarias para la aplicación de métodos paramétricos, pues algunos de los muestreos no presentaron distribución normal y las varianzas no fueron homogéneas.

Se aplicó el test de Kruskal-Wallis, que es un contraste no paramétrico análogo al análisis de varianza, con un nivel de significación del 95%; así, si $p > 0,05$ las diferencias no son significativas, y si $p < 0,05$ las diferencias son significativas.

3.3 Resultados

3.3.1 Crecimiento de la concha

El crecimiento de la concha de *Chlamys varia* procedente de semillas salvajes y de semillas producidas en hatchery se muestra en la Fig. 3.10. En ella se observa que el crecimiento de la zamburiña producida en hatchery y cultivada posteriormente en suspensión es menor que en la semilla procedente del medio. Posiblemente el crecimiento es menor en la zamburiña producida en hatchery porque durante las primeras etapas de desarrollo haya tenido algún tipo de carencia nutricional. Sin embargo, la semilla salvaje cultivada en batea alcanza la talla legal de 40 mm de altura a finales de su segundo invierno (edad aproximada 18 meses), aunque una talla de interés comercial (50 mm) no se alcanza hasta los 24 meses.

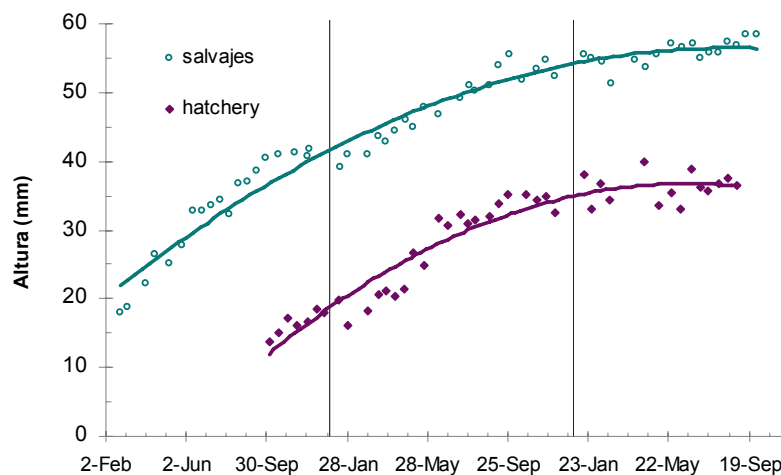


Fig. 3.10. Crecimiento de la concha de *Chlamys varia* procedente de semillas salvajes y procedente de semillas producidas en hatchery, posteriormente cultivada en suspensión durante 3 años. Las líneas de separación verticales limitan cada año.

3.3.2 Ciclo reproductor

Variación del índice de condición gonadal (ICG)

Zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Las variaciones registradas en el ICG de la zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos se muestran en la Figura 3.11. En ella se observa un valor máximo a principios del mes de mayo (ICG=5,32), seguido de una pequeña pero significativa disminución a finales de este mes, probablemente asociada a un primer desove (desove de primavera). Posteriormente se observa un segundo pico el 15 de junio (ICG=4,39), se mantienen valores elevados hasta el 17 de julio y se produce una disminución significativa a finales de este mes (desove de verano). El tercer pico en el desarrollo gonadal, con un aumento mucho menor pero igualmente significativo ($p < 0,05$), se da en septiembre alcanzando un máximo a finales de ese mes (ICG=1,5), seguido de una disminución significativa a principios de octubre, correspondiendo con el tercer desove (desove de otoño), en el que se produce una liberación completa de los gametos, entrando en periodo de reposo hasta la siguiente temporada.

En el año 2008, el patrón de desarrollo gonadal es muy semejante al obtenido el año anterior, aunque los valores máximos del ICG son significativamente menores. El mayor de los picos de desarrollo gonadal (ICG=4,01) se obtiene a principios de mayo, disminuye de manera significativa durante el mes de junio y continúa en desove hasta el mes de julio (desove de verano). Se registra un segundo pico, menor y no significativo, en el mes de agosto (ICG=0,79), seguido de una disminución significativa del ICG desde principios de septiembre (desove de otoño).

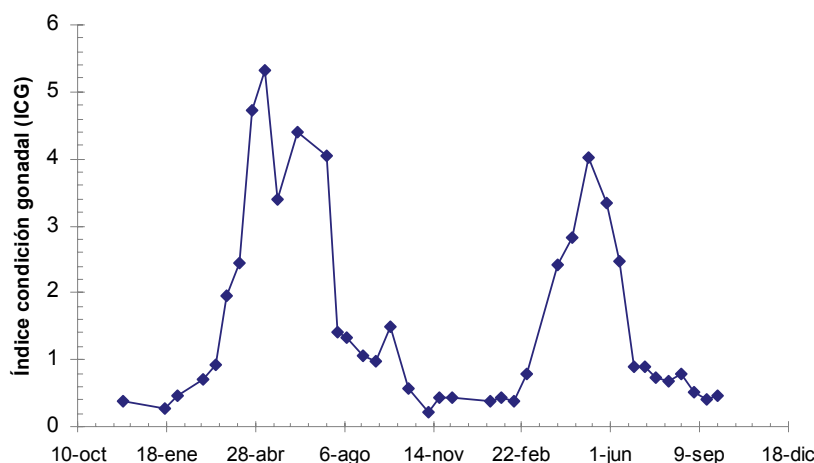


Fig. 3.11. Variación del índice de condición gonadal de *Chlamys varia* cultivada en la Ría de Ares-Betanzos.

Zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (Cabo de Cruz)

Las variaciones registradas en el ICG de la zamburiña cultivada en la Ría de Arosa se muestran en la Figura 3.12. El primer pico de desarrollo gonadal se observa el 18 de abril (ICG=4,09), seguido de una disminución significativa de los valores hasta principios del mes mayo (desove de primavera). El segundo pico alcanza valores máximos (ICG=5,28) el 22 de junio y disminuye significativamente hasta finales de septiembre (desove de verano), cuando se registra un tercer pico (ICG=1,05), seguido de una disminución significativa hasta el mes de noviembre (desove de otoño), produciéndose una liberación completa de los gametos y entrando en periodo de reposo hasta la siguiente temporada.

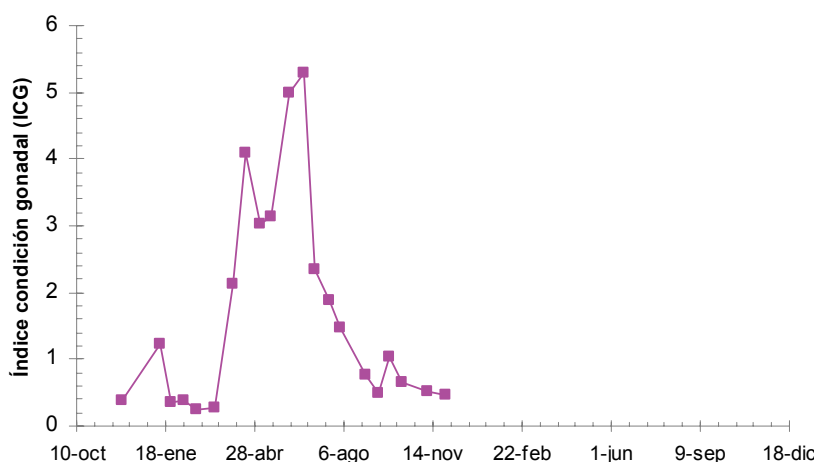
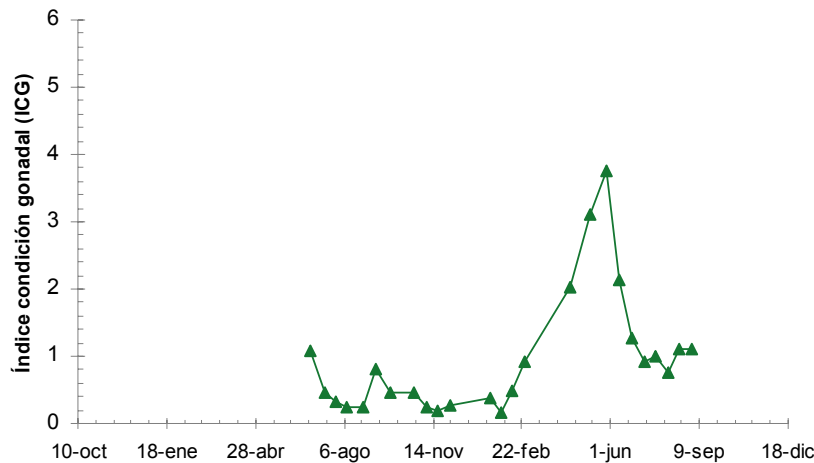


Fig. 3.12. Variación del índice de condición gonadal de *Chlamys varia* cultivada en la Ría de Arosa.

Zamburiña producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Las variaciones registradas en el ICG de la zamburiña producida en hatchery y cultivada posteriormente en la Ría de Ares-Betanzos se muestran en la Figura 3.13. Cuando se inicia el estudio la gónada ya está desarrollada y posiblemente ya ha iniciado el desove, por lo que se produce un descenso progresivo del ICG a lo largo de todo el mes de julio ($p<0,05$), muy posiblemente como continuación de un primer pico primaveral, continuando el desove en el mes de agosto (desove de verano). Se obtiene un aumento pequeño pero significativo en el desarrollo gonadal el 12 de septiembre (ICG=0,80), seguido de una disminución significativa de los valores de este índice hasta la liberación completa de los gametos (desove de otoño), entrando en fase de reposo gonadal hasta la siguiente temporada.

El segundo año (2008) se produce un gran aumento en el ICG durante la primavera ($p<0,05$), alcanzando máximos de ICG=3,76 a finales de mayo y disminuyendo de manera significativa durante el mes de junio (desove de verano, $p<0,05$), continuando el desove hasta principios de agosto. Posteriormente, muestra un pequeño aumento a mediados de agosto ($p<0,05$), que se mantiene en septiembre con valores del ICG próximos a 1,12.



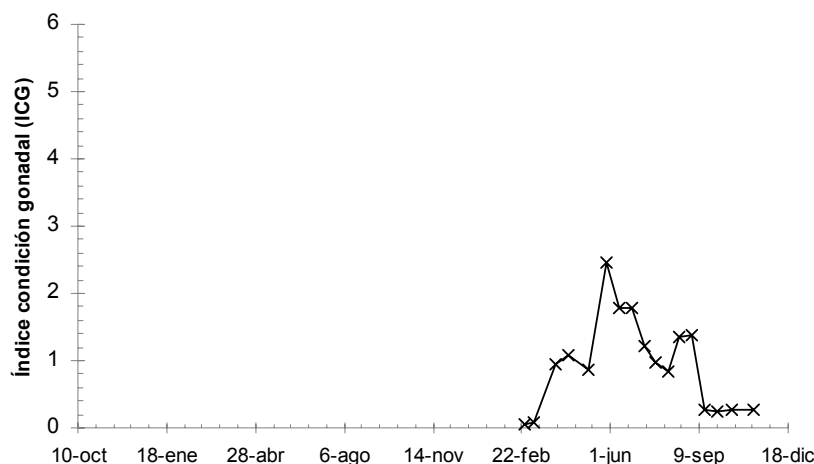


Fig. 3.14. Variación del índice de condición gonadal de *Chlamys varia* captada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos.

Patrón estacional de la gónada

El ICG de *C. varia* comienza a aumentar a finales del invierno-principio de primavera, englobando el ciclo reproductor primavera y verano y mostrando un pequeño desarrollo gonadal en septiembre del año 2007, que es mucho menos pronunciado y se adelanta (mediados de agosto-principios de septiembre) en el año 2008. Se observa un descenso del ICG en otoño, lo que marca el inicio del período de reposo (Fig. 3.15.). Entre las zamburiñas adultas cultivadas en Lorbé y las cultivadas en Cabo de Cruz apenas se observan diferencias, ambas muestran 3 máximos durante el año 2007 (8 mayo, 15 junio y 27 septiembre en Lorbé y 18 abril, 22 junio y 25 septiembre en Cabo de Cruz). Del mismo modo, las zamburiñas producidas en hatchery también muestran el último pico del mes de septiembre. Posteriormente se produce una evacuación completa de los gametos y la gónada entra en fase de reposo hasta la siguiente temporada. Durante el año 2008 se observa una disminución significativa de los valores máximos del ICG de las zamburiñas adultas cultivadas en Lorbé, lo que indicaría una disminución relativa del esfuerzo reproductivo en ejemplares de mayor edad. No se observan grandes diferencias en la variación estacionalidad del ICG de las zamburiñas adultas cultivadas en Lorbé (ZML) y las zamburiñas producidas en hatchery (ZH) durante el año 2008, mostrando 2 picos (6 mayo y 19 agosto en ZML; 27 mayo y 18 agosto en ZH). Las zamburiñas captadas mediante colectores presentan el mismo patrón de desarrollo gonadal, mostrando 2 máximos (27 mayo y 1 septiembre).

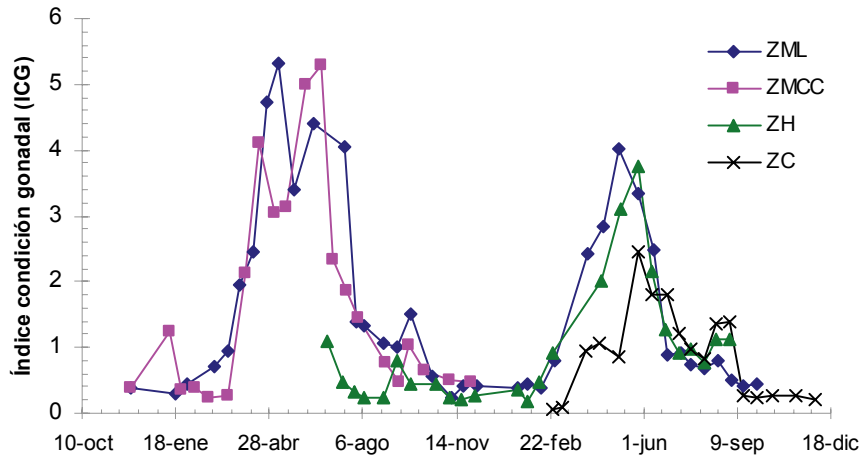


Fig. 3.15. Variación del índice de condición gonadal de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas. ZML: Zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé), ZMCC: Zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (Cabo de Cruz), ZH: Zamburiña producida en hatchery, ZC: Zamburiña captada mediante colectores.

3.3.3 Ciclo de reservas

Variación del índice de condición de la glándula digestiva (IGD)

Zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Durante el invierno del año 2007 el IGD de las zamburiñas cultivadas en la Ría de Ares-Betanzos muestra valores muy bajos, siendo mínimos el 15 de marzo (IGD=0,83), probablemente debido a que la energía almacenada está siendo empleada para el mantenimiento metabólico o las necesidades energéticas de la gónada (Fig. 3.16.). A partir de esa fecha se observa un aumento significativo de este índice hasta el mes de abril, con un pico el día 25 de este mes (IGD=4,3), coincidiendo con valores máximos en el ICG y seguido de una disminución significativa en el IGD hasta finales de mayo. Se observa un segundo pico en el IGD el 15 de junio (IGD=4,21), disminuyendo hasta mínimos (IGD=2,12) el 8 de agosto. A continuación se produce un tercer aumento significativo en el IGD alcanzando un máximo de IGD=4,34 el 27 de septiembre, cuando la gónada está en puesta y disminuye progresivamente hasta tomar valores mínimos durante los meses de invierno, especialmente durante el mes de febrero, coincidiendo con el estado de reposo gonadal y con el comienzo del desarrollo de la siguiente gónada.

A partir del mes de febrero los valores del IGD aumentan significativamente hasta alcanzar un máximo el 27 de mayo (IGD=2,8), que, sin embargo es menor que el año anterior, cuando la gónada está en puesta, disminuyendo hasta tomar un valor mínimo y significativo (IGD=1,77) el 27 de junio. Finalmente vuelve a aumentar el valor de este índice hasta el 30 de septiembre (IGD=2,35).

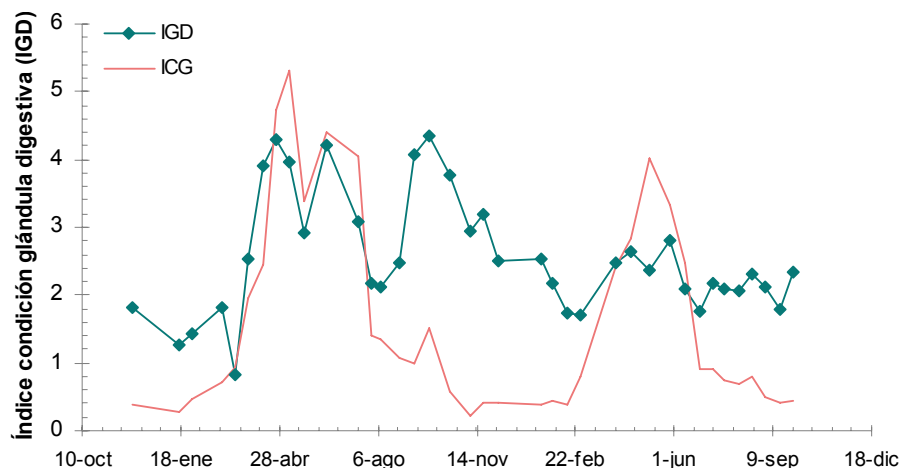


Fig. 3.16. Variación del índice de condición de la glándula digestiva de la zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZML). IGD: índice de condición de la glándula digestiva; ICG: índice de condición gonadal.

Zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (Cabo de Cruz)

Durante el invierno del año 2007, el IGD de *C. varia* adulta cultivada en Cabo de Cruz muestra valores muy bajos, siendo mínimos el 14 de marzo (IGD=0,97), fecha en la que gónada ya ha comenzado a desarrollarse (Fig. 3.17.). Se observan 3 aumentos significativos en los valores del IGD: uno el 4 de mayo (IGD=5,04), otro el 6 de junio (IGD=4,1) y un tercero el 25 de septiembre (IGD=5,08), coincidiendo con etapas de desarrollo gonadal máximo y puesta.

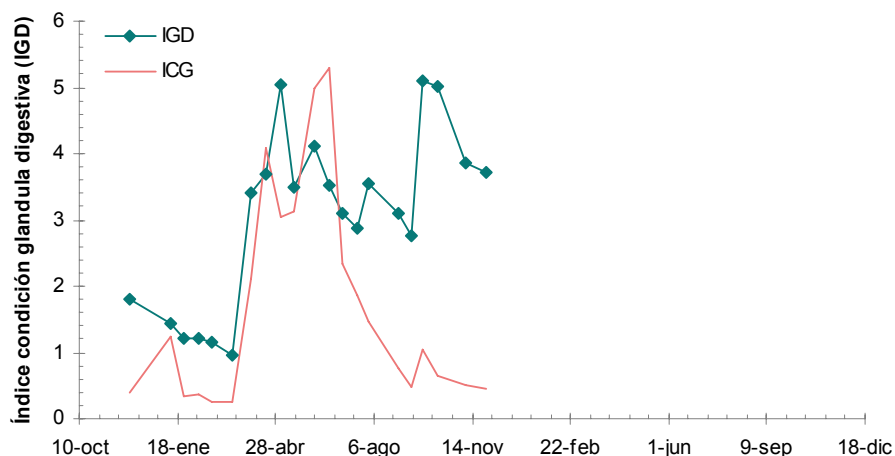


Fig. 3.17. Variación del índice de condición de la glándula digestiva de la zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (ZMCC). IGD: índice de condición de la glándula digestiva; ICG: índice de condición gonadal.

Zamburiña producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Al comenzar el estudio, el 28 de junio 2007, se observa un máximo en el valor del IGD (IGD=2,53), coincidente con el desove de verano, que disminuye de forma significativa hasta tomar valores mínimos el 28 de agosto (IGD=1,3) (Fig. 3.18.). Se observa un segundo aumento significativo obteniendo un valor máximo el 26 septiembre (IGD=2,9), cuando la gónada se encuentra en puesta de otoño. Los valores del IGD descienden significativamente durante los meses de otoño para alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno (29 enero, IGD=0,86), en la etapa de reposo gonadal.

Durante la primavera del año 2008 se observan 2 máximos, el 10 junio (IGD=3,68), correspondiendo con el desove de verano; y el 1 septiembre (IGD=5,04), cuando el ICG es máximo.

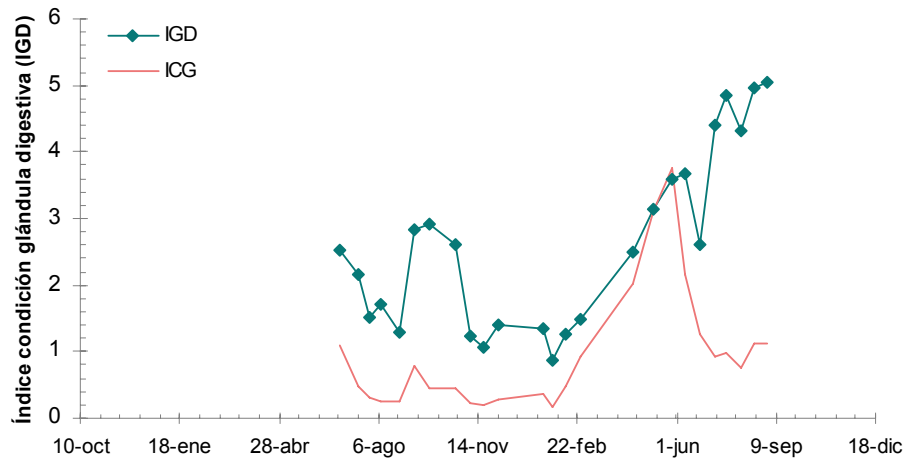


Fig. 3.18. Variación del índice de condición de la glándula digestiva de la zamburiña producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZH). IGD: índice de condición de la glándula digestiva; ICG: índice de condición gonadal.

Zamburiña captada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Durante la primavera del año 2008 los valores del IGD son bajos lo que conlleva que la energía está siendo empleada para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada (Fig. 3.19.). Este índice aumenta significativamente hasta el 27 de mayo (IGD=2,78), cuando el índice gonadal alcanza el valor máximo de primavera. El IGD mantiene valores elevados durante el verano, mostrando un aumento significativo el 18 de agosto (IGD=4,4) mientras la gónada está en puesta, comienza a disminuir en otoño, con un pequeño pico significativo el 16 de octubre (IGD=2,98) y alcanza valores mínimos en invierno (2 diciembre, IGD=1,72), cuando la gónada se encuentra en la fase de reposo.

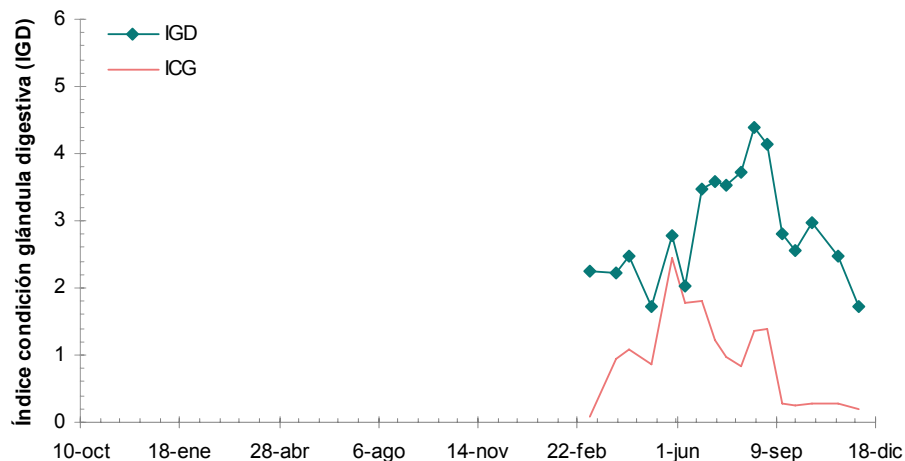


Fig. 3.19 Variación del índice de condición de la glándula digestiva de la zamburiña captada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZC). IGD: índice de condición de la glándula digestiva; ICG: índice de condición gonadal.

Patrón estacional de la glándula digestiva

El índice de condición glandular de las poblaciones de *C. varia* presenta gran variación estacional, llegando multiplicarse por 6 los valores del IGD durante el periodo de estudio (Año 2007 ZML IGDx5, ZMCC IGDx5; Año 2008 ZML IGDx1,5, ZH IGDx6, ZC IGDx3,5). Al comienzo del estudio, coincidiendo con la estación invernal, el IGD de *C. varia* adulta cultivada tanto en Lorbé como en Cabo de Cruz muestra valores mínimos, especialmente a mediados del mes de marzo (Fig. 3.20.), probablemente debido a que la energía almacenada en este órgano estaba siendo empleada para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada. Durante la primavera se observa un claro incremento en este índice, con máximos entre primavera-principios de otoño (25 abril, 15 junio y 27 septiembre en ZML; 4 mayo, 6 junio y 25 septiembre en ZMCC; 28 junio y 26 septiembre en ZH), que coinciden en el tiempo con los valores máximos de desarrollo gonadal y puesta. Los valores del IGD descienden durante los meses de otoño para alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno (27 febrero en ZML y 29 enero en ZH), cuando la gónada se encuentra en reposo y durante el comienzo del desarrollo de la siguiente gónada. Durante la primavera del año 2008 se observa un patrón de desarrollo de la glándula digestiva semejante en todas las poblaciones con máximos entre primavera-principios de otoño (27 mayo y 30 septiembre en ZML; 10 junio y 1 septiembre en ZH; 27 mayo, 18 agosto y 16 octubre en ZC). Sin embargo, se alcanzan valores máximos superiores en las ZH y ZC que en las ZML, probablemente debido a que el IGD de *C. varia* disminuye con la edad.

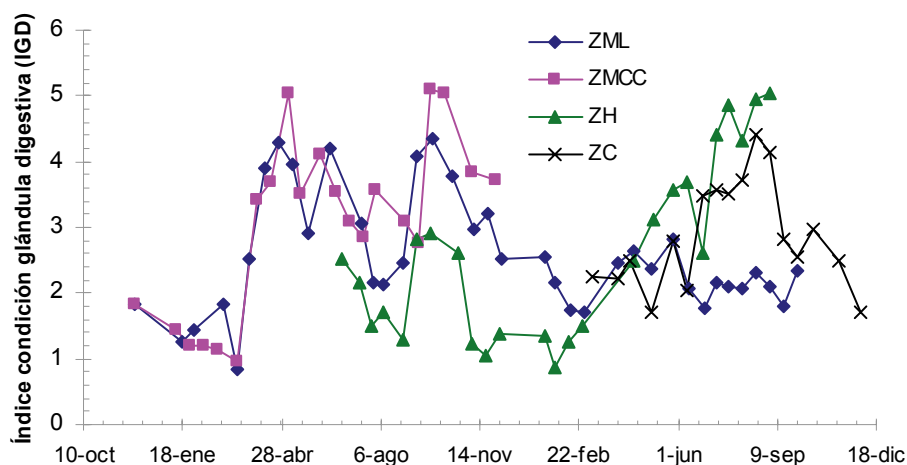


Fig. 3.20. Variación del índice de condición de la glándula digestiva de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas.

Variación del índice de condición muscular (IM)

Zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Durante el invierno del año 2007 los valores del IM son bajos, mostrando valores mínimos el 15 de marzo (IM=4,48), lo que señala el empleo de la energía almacenada en este órgano para el mantenimiento metabólico o para las necesidades de la gónada (Fig. 3.21.). Este índice aumenta significativamente durante la primavera, con un máximo el 25 de abril (IM=6,12), correspondiendo con ICG muy elevados y se reduce significativamente durante los meses de verano, aumentando de nuevo de manera significativa y más acentuada hasta el 18 de noviembre (IM=9,14), momento en el que la gónada se encuentra en puesta de otoño. Los valores del IM descienden durante los meses de otoño para alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno (27 febrero,

IM=4,61), tras haberse producido la liberación completa de los gametos y encontrarse la gónada en fase de reposo y durante el comienzo del desarrollo de la siguiente gónada. Durante la primavera del año 2008 el IM aumenta progresivamente hasta valores máximos significativos el 19 de agosto (IM=5,26), cuando el ICG alcanza valores máximos y el 30 septiembre (IM=6,49), correspondiendo con el periodo de puesta de otoño.

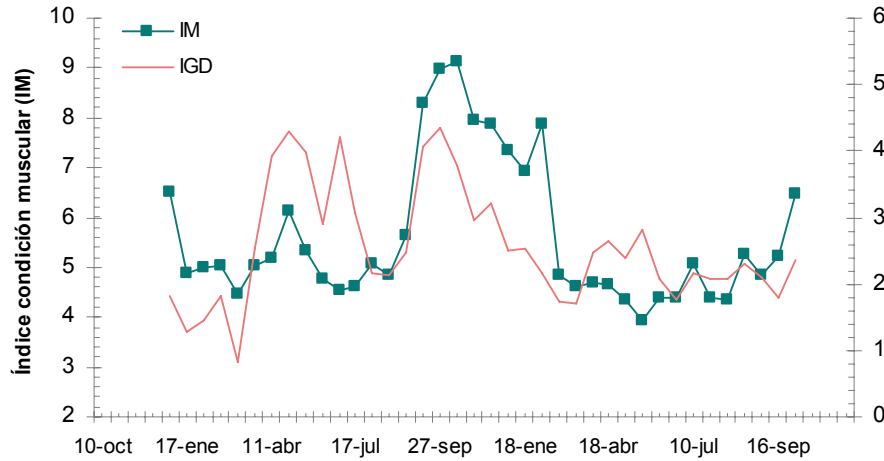


Fig. 3.21. Variación del índice de condición muscular de la zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZML). IM: índice de condición muscular; IGD: índice de condición de la glándula digestiva.

Zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (Cabo de Cruz)

Durante el invierno del año 2007 los valores del IM de *C. varia* cultivada en Cabo de Cruz son bajos (Fig. 3.22.), mostrando valores mínimos el 22 de febrero (IM=4,09), cuya explicación es el empleo de la energía almacenada en este órgano. Durante la primavera se observa un aumento progresivo en este índice, con valores máximos significativos el 4 de mayo (IM=6,04), coincidiendo con el desove de primavera, que disminuyen significativamente durante los meses de verano, para volver a aumentar de forma significativa hasta el 10 de octubre (IM=9,31), periodo del desove de otoño.

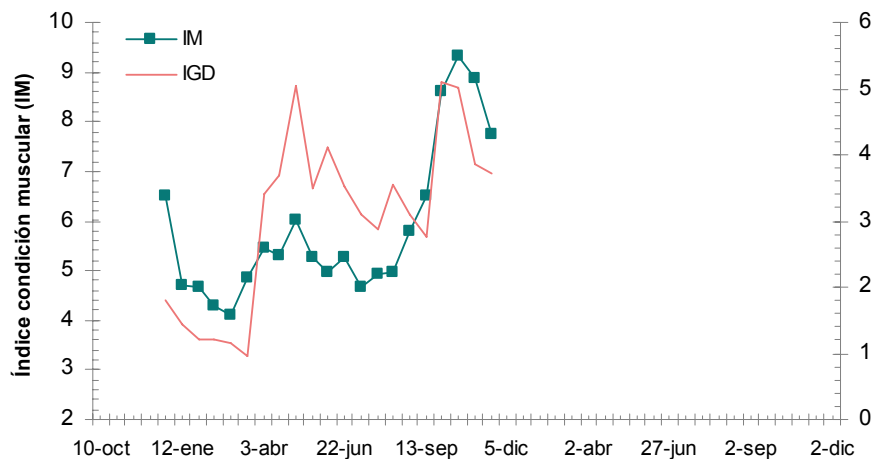


Fig. 3.22. Variación del índice de condición muscular de la zamburiña cultivada en la Ría de Arosa (ZMCC). IM: índice de condición muscular; IGD: índice de condición de la glándula digestiva.

Zamburiña producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Durante los meses de verano del año 2007 se observa una disminución significativa del IM, con valores mínimos el 28 de agosto (IM=3,63) (Fig. 3.23.). A continuación se produce un aumento significativo con un máximo el 26 septiembre (IM=6,26), coincidiendo

do con el desove de otoño. Posteriormente, el IM muestra un descenso progresivo durante los meses de otoño para alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno, periodo de reposo gonadal (29 enero, IM=2,53).

Durante el año 2008 se observa un desarrollo muscular significativo a partir del mes de enero alcanzando un máximo de IM=7,46 el 21 julio, periodo de desove de verano. Se mantienen valores altos en este índice hasta el mes de septiembre (1 septiembre, IM=7,16), periodo donde el ICG también muestra valores elevados.

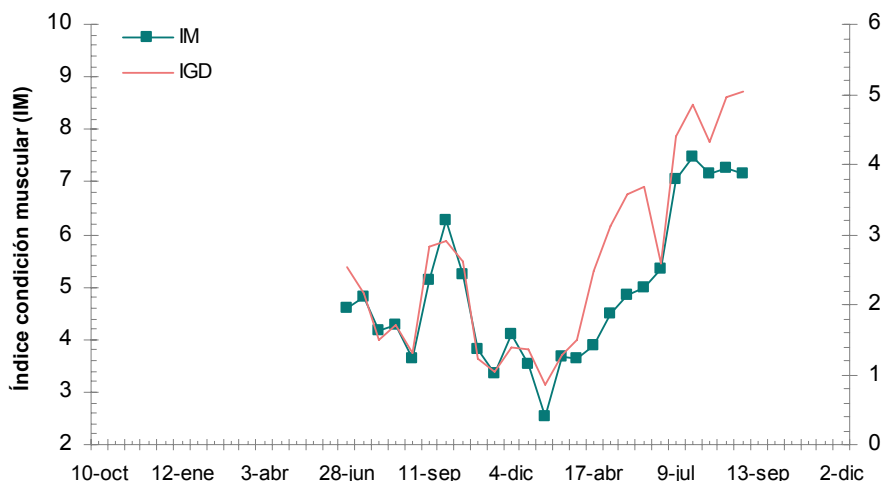


Fig. 3.23. Variación del índice de condición muscular de la zamburiña producida en hatchery y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZH). IM: índice de condición muscular; IGD: índice de condición de la glándula digestiva.

Zamburiña captada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (Lorbé)

Al inicio del estudio, en invierno, el índice de condición muscular es mínimo (25 febrero, IM=2,23), probablemente debido a que la energía se está empleando para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada (Fig. 3.24.). El IM aumenta a partir de esa fecha hasta alcanzar un valor máximo y significativo el 1 de abril (IM=4,79), coincidiendo con la fecha en la que el índice gonadal alcanza los valores máximos de primavera. Este índice mantiene valores altos durante el verano (1 septiembre, IM=6,6), mientras que la gónada está en puesta y comienza a disminuir de forma significativa en otoño, alcanzando valores mínimos en invierno (2 diciembre, IM=4,55), cuando la gónada se encuentra en la fase de reposo.

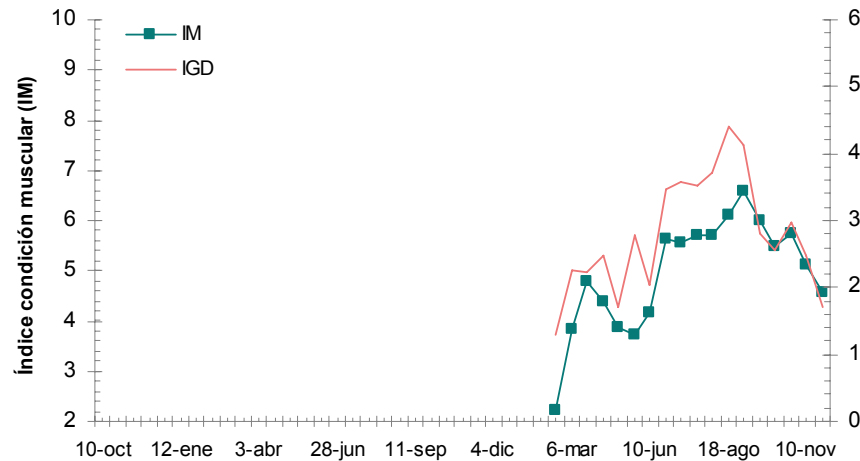


Fig. 3.24. Variación del índice de condición muscular de la zamburiña capturada mediante colectores y cultivada en la Ría de Ares-Betanzos (ZC). IM: índice de condición muscular; IGD: índice de condición de la glándula digestiva.

Patrón estacional del músculo aductor

El índice de condición muscular de *C. varia* experimenta gran variación estacional, llegando multiplicarse por 3 los valores del IM (Año 2007 ZML IMx2, ZMCC IMx2; Año 2008 ZML IMx2, ZH IMx3, ZC IMx3). Al comienzo del estudio, durante los meses de invierno, el índice de condición muscular de *C. varia* cultivada tanto en Lorbé como en Cabo de Cruz muestra valores mínimos, 15 marzo en ZML y 22 febrero en ZMCC (Fig. 3.25.), probablemente debido a que la energía almacenada en este órgano está siendo empleada para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada. Durante la primavera se observa un incremento en este índice, con valores máximos entre primavera-otoño (25 abril y 18 noviembre en ZML; 4 mayo y 10 octubre en ZMCC; 26 septiembre en ZH), que coinciden en el tiempo con los valores máximos de desarrollo gonadal y puesta. Los valores del IM descienden durante los meses de otoño para alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno (27 febrero en ZML y 29 enero en ZH), cuando la gónada se encuentra en reposo. Durante la primavera del año 2008 se observa un patrón de desarrollo muscular semejante en todas las poblaciones con máximos entre primavera-principios de otoño (19 de agosto y 30 septiembre en ZML; 21 julio en ZH; 1 abril y 1 septiembre en ZC).

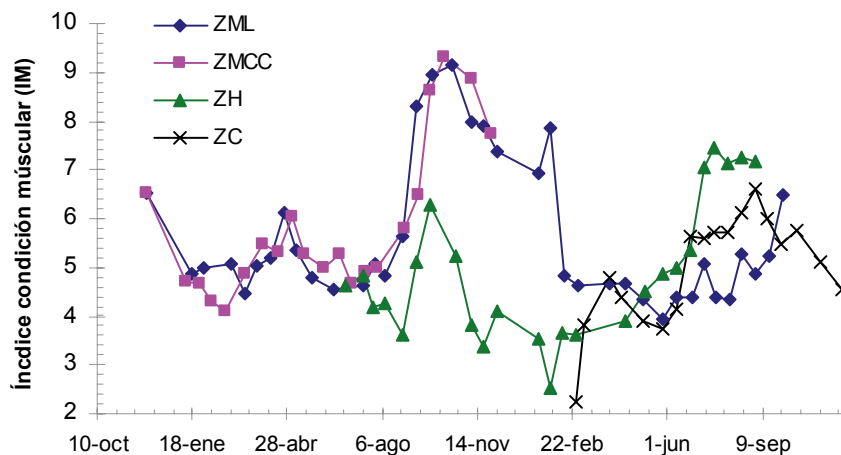


Fig. 3.25. Variación del índice de condición muscular de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas.

3.3.4 Relación entre el ciclo reproductor y el ciclo de reservas

El patrón estacional de los índices de condición gonadal, de la glándula digestiva y muscular de *Chlamys varia* varia se muestra en la Figura 3.26. El ICG de *C. varia* comienza a aumentar a finales del invierno-principio de primavera, englobando el ciclo reproductor primavera y verano. A continuación muestra un pequeño desarrollo gonadal entre mediados de agosto-principios de septiembre y los valores del índice descienden durante el otoño, entrando en periodo de reposo hasta la temporada siguiente. El IGD sigue una pauta similar a la del ICG durante la temporada de cría, pero durante el periodo de reposo de la gónada, la glándula digestiva acumula reservas para pasar el invierno y suministrar energía para el inicio de la gametogénesis. También se observan incrementos simultáneos a los de la gónada durante el pequeño desove otoñal. Pero pueden ser debidos, al menos en parte, a que durante el otoño acumula reservas para pasar el invierno. Por último, el IM presenta una pauta de acumulación y empleo de reservas semejante a la observada en el IGD durante la temporada de cría y en el pequeño desove otoñal. Durante el periodo de reposo de la gónada acumula gran cantidad de reservas para el mantenimiento metabólico en invierno y suministrar energía a la gónada para el inicio de la gametogénesis.

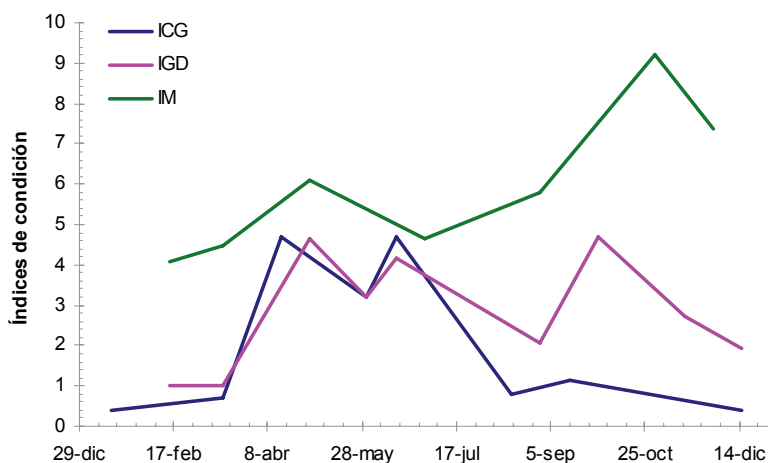


Fig. 3.26. Patrón de variación de los índices de condición gonadal, de la glándula digestiva y del músculo aductor de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas (año 2007).

3.4 Discusión

3.4.1 Ciclo reproductor

El ciclo reproductor de *Chlamys varia* ha sido estudiado por diversos autores, señalados en la Tabla 3. 1. Estos autores coinciden en su descripción de una puesta primaveral y una segunda puesta estival u otoñal, aunque autores como Lubet, (1959), Lucas (1965) o Burnell, (1983, 1991) observan también la existencia de puestas intermedias de menor intensidad a lo largo del año.

Especie	Localidad	Periodo de puesta	Referencias
<i>Chlamys varia</i>	Isla de Man, Mar de Irlanda	Junio, noviembre	Reddiah (1962)
	Lanveoc-Bahía de Brest, Francia	Primavera, otoño	Conan & Shafee (1978)
	Bahía de Brest, Francia	Junio, septiembre	Shafee (1980)
	Bahía de Quiberón, Francia	Junio, julio-agosto	Perodou & Latrouite (1981)
	Costa Oeste Irlanda	Junio, agosto	Burnell (1983)
	Costa Oeste Irlanda	Mayo-junio, julio-agosto	Ansell <i>et al.</i> (1991), Burnell (1991)
	Francia	Mayo, septiembre	Dalmon (1935); Lubet (1959)
	Lanveoc-Bahía de Brest, Francia	Mayo, septiembre	Lucas (1965); Shafee & Lucas (1980)
	Galicia	Marzo-mayo, agosto	Parada <i>et al.</i> (1993)
	Galicia	Abril-Mayo, junio	De la Roche (2008)
	Málaga	Mitad invierno, mediados agosto	De la Roche (2008)
	Galicia	Mayo-julio, agosto-octubre	Este estudio

Tabla 3.1. Periodo de puesta de *Chlamys varia* por localidad.

A la vista de los resultados obtenidos y en consonancia con los escasos estudios reproductivos realizados con esta especie en Galicia (Parada *et al.*, 1993; De la Roche, 2008), se puede decir que en las rías gallegas *C. varia* comienza la gametogénesis en invierno, alcanzando el máximo desarrollo gonadal en los meses de abril-junio. Sin embargo, en este estudio, el periodo de puestas es más extenso, incluyendo los meses desde mayo hasta octubre. Existe una puesta principal en primavera-verano, coincidiendo con el periodo de máxima actividad reproductiva y una puesta menor en verano-otoño, por lo que se constata la aceptación general de que el ciclo reproductor en *C. varia* muestra un patrón bimodal o semianual.

Los pectínidos pueden presentar gametogénesis anuales, semianuales o continuas (Barber & Blake, 2006). Los periodos reproductivos largos en los bivalvos, se consideran estrategias adaptativas a condiciones ambientales variables, especialmente la temperatura y la disponibilidad de alimento (Avendaño, 1993). Así, un periodo reproductivo ex-

tenso en el que se realizan varias puestas, aumenta la probabilidad de que al menos alguna cohorte larvaria sobreviva y encuentre las condiciones favorables para el asentamiento (Paulet *et al.*, 1988; Barber & Blake, 1991).

En este estudio, la estacionalidad y extensión del periodo de puesta es muy semejante al descrito en las poblaciones de *C. varia* de Irlanda o Francia, produciéndose la disminución de la actividad reproductiva durante el otoño (Dalmon, 1935; Lubet, 1959; Reddiah, 1962; Lucas, 1965; Conan & Shafee, 1978; Shafee, 1980; Shafee & Lucas, 1980). Por este motivo, no se puede determinar un gradiente latitudinal en la actividad reproductiva de las poblaciones de *C. varia* en Galicia con respecto a las poblaciones situadas más al norte, como sugieren Parada *et al.* (1993) o De la Roche (2008). Por lo tanto, las diferencias que puedan aparecer en la estacionalidad y la extensión de la actividad reproductora de distintas poblaciones de *C. varia*, parecen depender principalmente de los factores ambientales locales, como la temperatura o la disponibilidad de alimento.

Las variaciones observadas en la extensión del periodo de puestas de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas entre los estudios previos realizados por Parada *et al.* (1993), De la Roche (2008) y el presente estudio, podrían deberse a variaciones interanuales producidas por la interacción de diversos factores externos abióticos. Variaciones interanuales también se han observado en poblaciones de zamburiña de la costa francesa por Lubet (1959), así como en otras especies como *Pecten maximus*, *Placopecten magellanicus* o *Argopecten gibbus* (Barber & Blake, 2006). Otros pectínidos parecen no mostrar grandes variaciones interanuales en el patrón de desarrollo gonadal, como ocurre en *Argopecten irradians*, *Pecten alba* o *Chlamys islandica* (Barber & Blake, 2006).

Sin embargo, el patrón estacional de la gónada de *Chlamys varia* no presenta variaciones importantes entre lugares de cultivo durante este estudio, como tampoco ocurre en *Pecten alba* (Sause *et al.*, 1987). Posiblemente se deba a que la zamburiña fue cultivada en los diferentes experimentos a la misma profundidad y con las mismas condiciones de cultivo.

Las poblaciones de pectínidos tienden a madurar y realizar puestas sincronizadas (Barber & Blake, 1991), pues de esta forma aseguran la fertilización, ya que los gametos se emiten al agua cuando las condiciones son favorables para la supervivencia larvaria (Williams & Babcock, 2004). Sin embargo, algunos pectínidos como *Chlamys bifrons* y *Chlamys asperrima* (Styan & Butler, 2003) o *Argopecten purpuratus* (Cantillanez *et al.*, 2005), muestran asincronía en la actividad reproductiva. En el caso de *Pecten jacobaeus* la sincronización del ciclo reproductor presenta variaciones importantes a lo largo del año, siendo más débil durante las puestas (Mestre, 1992). En consonancia con los resultados de este autor, en este estudio se ha observado que en *Chlamys varia* la sincronización durante la puesta no es muy elevada.

3.4.2 Ciclo de reservas

Las variaciones estacionales del índice de condición de los tejidos somáticos muestran las partes del cuerpo donde tiene lugar la acumulación de reservas. Un incremento en el índice indica la acumulación de reservas y un descenso su utilización. La importancia de las reservas energéticas en el proceso reproductivo, depende de las poblaciones y puede variar según la disponibilidad de alimento (Barber & Blake, 1991).

Se confirman la glándula digestiva y el músculo aductor como órganos de almacenamiento de energía en *Chlamys varia*, debido a su gran variación durante el periodo de estudio, llegando a multiplicarse por 6 los valores del índice de condición de la glándula digestiva y a triplicarse el índice de condición muscular. Por lo tanto, *C. varia* es una especie que posee la capacidad de almacenar nutrientes (glucógeno, lípidos y proteínas) en tejidos somáticos especializados.

Durante el invierno, *C. varia* presenta valores mínimos de almacenamiento de energía tanto en la glándula digestiva como en el músculo aductor, probablemente debido a que dicha energía está siendo empleada para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada durante el comienzo de la gametogénesis. La transferencia de nutrientes desde la glándula digestiva hacia la gónada durante el inicio del desarrollo gonadal también fue descrita en *Aequipecten irradians* por Sastry & Blake (1971) y la transferencia desde el músculo hacia la gónada en la especie *Chlamys septemradiata* por Ansell (1974).

Durante la primavera el almacenamiento de energía en ambos órganos aumenta y vuelve a disminuir durante el otoño, abarcando los meses de marzo hasta octubre en el caso de la glándula y desde marzo hasta noviembre el músculo. La pauta de desarrollo de la glándula digestiva y del músculo aductor es similar al desarrollo gonadal durante la temporada de cría y en el pequeño desove otoñal, resultado opuesto al observado por Parada *et al.* (1993), que describen un patrón muscular inverso al patrón gonadal en esta misma especie. Sin embargo, cuando la gónada ya se ha vaciado (principios de otoño), tanto la glándula como el músculo continúan acumulando reservas para pasar el invierno y suministrar energía para el inicio de la gametogénesis. El almacenamiento de energía en los tejidos somáticos desciende posteriormente hasta alcanzar de nuevo mínimos durante los meses de invierno.

3.4.3 Relación entre el ciclo reproductor y el ciclo de reservas

La gametogénesis es un proceso que requiere energía, que puede provenir del alimento ingerido o bien de las reservas almacenadas previamente en la glándula digestiva y el músculo aductor (Ansell, 1974; Gabbott, 1975; Barber & Blake, 1983; Pazos *et al.*, 1997). De acuerdo con Bayne (1976) y Kang *et al.* (2000), el ciclo de almacenamiento de energía y el ciclo de desarrollo gonadal pueden ocurrir simultáneamente o pueden estar claramente separados. Cuando la gametogénesis tiene lugar empleando la energía almacenada en los tejidos somáticos se sigue un patrón conservador, pero cuando la gametogénesis ocurre cuando el alimento en el agua es suficiente para proporcionar la energía requerida por el proceso, el patrón es oportunista. Además, señalan la existencia de especies con patrones gametogénicos mixtos, que presentan estrategias reproductivas intermedias entre la conservadora y la oportunista.

La relación del conjunto de resultados obtenidos, permite un mejor conocimiento de la estrategia reproductiva de la especie estudiada. *Chlamys varia* es una especie oportunista excepto durante un breve período a finales de invierno-comienzo de la primavera, cuando la gónada empieza su desarrollo, que es conservadora. El uso de estrategias intermedias se ha descrito anteriormente para algunas especies, tales como *Mytilus edulis* (Bayne, 1976) y *C. varia* (Shafee, 1981). La zamburiña inicia la gametogénesis en las rías gallegas a finales de invierno, cuando el alimento disponible no es suficiente para

alimentar las necesidades energéticas de la gónada y debe ser empleada la energía almacenada en los tejidos somáticos. La energía puede ser almacenada desde la primavera hasta el otoño, pero es empleada principalmente para el mantenimiento de las funciones vitales, excepto cuando el alimento disponible no es suficiente para el desarrollo de la gametogénesis.

Shafee (1981) señala dos periodos de puesta principales en la costa francesa, uno en primavera y otro en otoño, seguidos de un largo periodo de reposo durante los meses de invierno y de un desarrollo gonadal entre los meses de marzo y abril, cuando los niveles de alimento disponible en el medio son elevados. Observa un aumento simultáneo en el peso de la gónada y de los tejidos somáticos, sugiriendo que este primer desarrollo gametogénico emplea únicamente la energía procedente del alimento ingerido. Sin embargo, durante el segundo periodo de desarrollo gonadal, que finalizará con la puesta de otoño, determina una disminución importante de los tejidos somáticos. De esta manera sugiere que la energía almacenada durante el año anterior no juega un papel importante en la gametogénesis; mientras que en el verano, las reservas de los tejidos somáticos, así como la energía procedente del alimento ingerido, contribuyen al desarrollo gonadal, que concluirá con una segunda puesta durante el otoño.

En consonancia con estos resultados, Burnell (1983) observa que en la costa oeste de Irlanda, en primavera esta especie desarrolla la gónada principalmente a expensas del alimento disponible en el medio; mientras que el desarrollo gonadal de otoño se sustenta en las reservas energéticas acumuladas durante el verano. Finalmente, durante el invierno, cuando la disponibilidad de alimento es menor, parte de las reservas de verano cubren las demandas metabólicas.

De la Roche (2008) obtiene resultados similares en las poblaciones de zamburiña cultivadas en la costa de Málaga, aunque el último periodo de puesta se adelanta en estas poblaciones (desove de verano), se produce, del mismo modo que en las costas de Francia e Irlanda, una importante transferencia de energía entre el tejido somático y el reproductor (De la Roche, 2008).

En contraste, el mismo autor describe que la zamburiña cultivada en las costas gallegas, depende principalmente de la energía aportada por el alimento ingerido para satisfacer las demandas durante su segundo periodo de puesta, de menor intensidad.

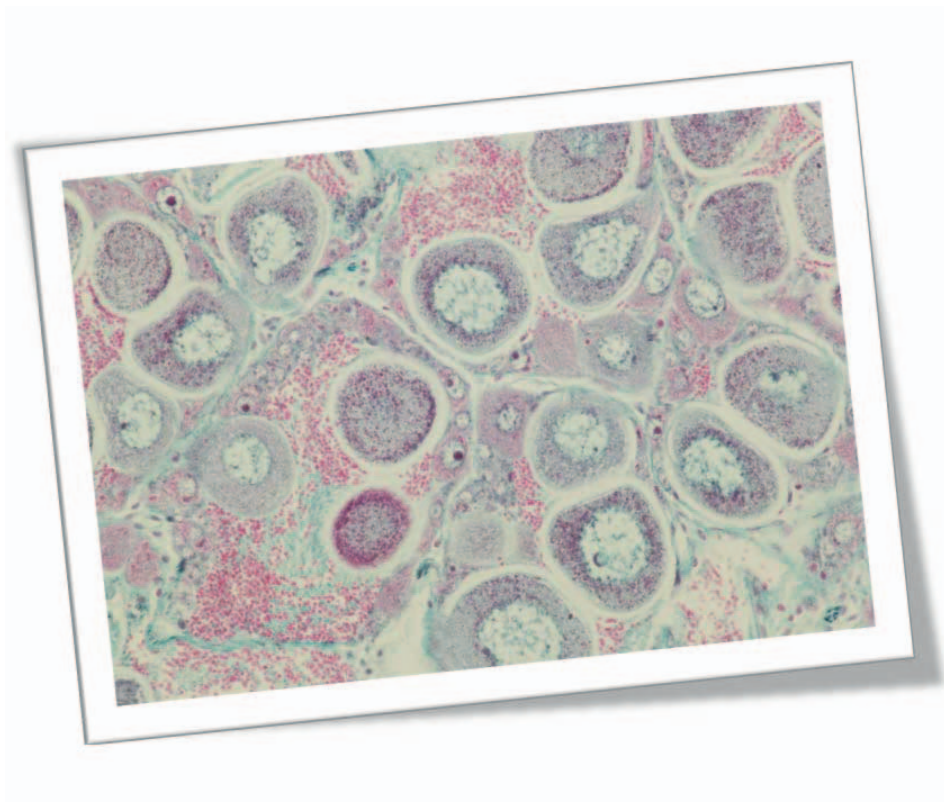
Tras el análisis del conjunto de resultados sobre el ciclo de reservas y el ciclo reproductor, *Chlamys varia* en Galicia parece requerir la energía almacenada en la glándula digestiva y en el músculo aductor durante cuando las puestas son muy intensas y el desarrollo gonadal no puede ser únicamente sustentado por los nutrientes disponibles en el agua de mar. Parte de la energía almacenada desde la primavera hasta el otoño en los tejidos somáticos será empleada por tanto, para abastecer las demandas metabólicas, para suplir el desgaste energético durante las puestas, hecho descrito previamente por Brokordt & Guderley (2004) y De la Roche (2008), o bien para el comienzo del desarrollo gonadal, en el periodo de puesta principal del siguiente ciclo anual.

Por lo tanto, en base a los resultados de este estudio, la zamburiña cultivada en las rías gallegas además de emplear la energía procedente del alimento ingerido, emplea la energía almacenada en los tejidos somáticos para el inicio del desarrollo de la gónada y durante los periodos de puesta que ocurren durante primavera-verano y verano-otoño. El

patrón del ciclo de energía muestra resultados muy similares a los obtenidos por De la Roche (2008) en las rías gallegas, con lo cual se puede verificar el requerimiento de la energía almacenada por *C. varia* en los tejidos somáticos cuando las puestas son muy intensas y cuando el nivel de nutrientes disponibles en el medio no es suficiente para el desarrollo gonadal.

3.5 Conclusiones

- *Chlamys varia* cultivada en suspensión en las rías gallegas comienza la gametogénesis a finales de invierno-principios de primavera, muestra un periodo de puestas extenso que abarca desde el mes de mayo hasta el mes de octubre y durante la estación invernal la gónada permanece en periodo de reposo.
- El ciclo reproductor en esta especie muestra un patrón bimodal o semianual con una puesta principal en primavera-verano y una puesta menor en verano-otoño. La sincronización de la gónada durante las puestas es moderada.
- La glándula digestiva y el músculo aductor son órganos de almacenamiento de energía en *Chlamys varia*, lo que queda confirmado por su gran variación estacional en peso.
- La pauta de desarrollo de la glándula digestiva y del músculo aductor es similar al desarrollo gonadal durante los dos periodos de maduración y desove. Sin embargo, cuando la gónada ya se ha vaciado (principios de otoño), tanto la glándula como el músculo continúan acumulando reservas para pasar el invierno y suministrar energía para el inicio de la gametogénesis. La energía almacenada en los tejidos somáticos desciende posteriormente hasta alcanzar valores mínimos durante los meses de invierno, probablemente debido a que está siendo empleada para el mantenimiento del metabolismo o para alimentar las necesidades energéticas de la gónada durante el comienzo de la gametogénesis.
- *C. varia* es una especie oportunista excepto durante un breve período a finales de invierno-comienzo de primavera, cuando la gónada empieza su desarrollo, durante el cual muestra un comportamiento conservador. La zamburiña inicia la gametogénesis en las rías gallegas a finales de invierno-principios de primavera, cuando el nivel de nutrientes disponibles en el medio no es suficiente para el desarrollo gonadal y requiere parte de la energía almacenada en los tejidos somáticos. Parte de la energía almacenada desde la primavera hasta el otoño en los tejidos somáticos es empleada para abastecer las demandas metabólicas, para suplir el desgaste energético durante las puestas que ocurren durante primavera-verano y verano-otoño o bien para el comienzo del desarrollo gonadal, en el periodo de puesta principal intensa del siguiente ciclo anual.



4 –Caracterización histológica del ciclo reproductor, gonadogénesis y gametogénesis de *Chlamys varia* (Linnaeus, 1758) cultivada en suspensión en las rías de Galicia

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL CICLO REPRODUCTOR, GONADOGÉNESIS Y GAMETOGÉNESIS DE *Chlamys varia* (Linnaeus, 1758) CULTIVADA EN SUSPENSIÓN EN LAS RÍAS DE GALICIA

4.1 Introducción

4.1.1 Gonadogénesis

4.1.1.1 Origen de la gónada y de las células germinales

El conocimiento del origen de las células germinales en los moluscos pectínidos es sumamente importante, ya que estas células constituyen las células madre a partir de las cuales se forman las series gametogénicas que originan los gametos (Wylie, 1999).

Existen varias hipótesis sobre el origen de las células germinales que difieren fundamentalmente en la localización y el estadio en el que comienzan a desarrollarse las células madre en los diferentes organismos. Las hipótesis más relevantes señalan el origen de las células germinales en el polo posterior de la blástula, como se cita para el género *Drosophila* (Mahowald *et al.*, 1976) o para la especie *Caenorhabditis elegans* (Wylie, 1999); en el hipoblasto o endodermo en los modelos experimentales de *Xenopus* y *Danio rerio* (Braat *et al.*, 1999); a partir del epiblasto en el pollo; e incluso se discute actualmente si en el ectodermo o mesodermo en el caso del ratón (Mayanagi *et al.*, 2003; McLaren, 2003).

El origen de la gónada (gonadogénesis) en los moluscos bivalvos ha sido muy poco estudiado, sin embargo, la mayoría de los estudios señalan su formación a partir del mesodermo primordial (Pelseneer, 1895; Woods, 1931; Lucas, 1965; Raven, 1966; Wada, 1968). Según Woods (1931), en los bivalvos las células madre germinales surgen durante las primeras divisiones del embrión, partiendo del micrómero d.4, antes de la gastrulación. Este autor observa en la masa mesodérmica, a cada lado del blastoceles, una gran célula que cambia su posición en la gónada y finalmente se multiplica hasta obtener un número indefinido de células descendientes. Autores como Coe (1943a) y Knaut *et al.* (2000) describen sin embargo que el comienzo de la formación gonadal en los bivalvos se sitúa en la zona ventral del pericardio, alrededor del ganglio visceral.

En el caso concreto de la génesis de la gónada de *C. varia*, Lubet & Allarakh (1981) y Lucas (1965), señalan el inicio de su formación en la región reno-pericárdica, describiendo a continuación una intensa migración celular hacia la región distal de la gónada, que será el lugar donde se producirá una gran proliferación de las células precursoras de las gonias. Todo este proceso va acompañado de un importante desarrollo del tejido conjuntivo y del comienzo de la formación de los folículos, los gonoductos y el tejido muscular. A nivel celular, en los organismos con reproducción sexual como la zamburiña, las líneas germinales surgen a partir de las células germinales primordiales (PGC, Primordial Germ Cells), una pequeña población celular que se separa de otras líneas celulares durante el desarrollo embrionario temprano, proliferan y migran para desarrollar la gónada en los embriones (Wylie, 1999). Posteriormente, en la gónada preadulta estas células se diferencian en células madre germinales (GSC, Germinal Stem Cells) (Fabioux, 2004).

Hoy en día continúan existiendo muchas dudas acerca de la localización y estructura de las células madre germinales en *C. varia*, de máxima importancia en su ciclo biológico, ya que darán origen posteriormente a las células germinales primarias visibles en las paredes de los folículos gonadales.

Este capítulo pretende aportar avances sobre el origen de las células madre germinales en *C. varia*.

4.1.1.2 Desarrollo de la gónada

Anatómicamente, la gónada de *Chlamys varia* consta de 2 partes: la porción discreta, que es la primera en formarse, comenzando en la base del pie, junto al riñón, rodeando al músculo aductor por el costado anterior y contiene en su interior parte del intestino y parte del estilo cristalino; y la porción difusa, que cubre la glándula digestiva, el pie y los palpos labiales cuando la gónada se encuentra en fase de máximo desarrollo (Beninger & Le Pennec, 1991).

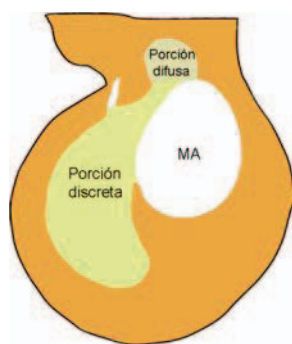


Fig. 4.1. Localización de la porción discreta y difusa de la gónada de *C. varia*. MA: músculo aductor.

Histológicamente, durante el desarrollo larvario la gónada comienza a formarse en una zona próxima al intestino. Primero se forma el epitelio externo de revestimiento de la gónada; a continuación el tejido conjuntivo, en el que eclosionarán las células que darán lugar a los gonoductos y folículos, y por último, se forman los haces de músculo liso interfolicular (Dorange *et al.*, 1989).

Desde el punto de vista temporal, el desarrollo de la gónada en los lamelibranquios es muy precoz (Pérez-Camacho & Román, 1987). Diversos autores señalan el comienzo del desarrollo gonadal en *C. varia* a edades muy tempranas: 6-8 meses de edad, cuando la altura de la concha de los individuos es de 2-12 mm (Lucas, 1965; De la Roche, 2008). Sin embargo, se acepta de forma general que las diferentes especies de pectíni-dos no alcanzan la madurez sexual hasta pasado un año de vida (Reddiah, 1962; Beninger & Le Pennec, 1991).

4.1.1.3 Estructura de la gónada

La gónada de *C. varia* está compuesta por un epitelio externo de revestimiento que bordea la porción discreta de la gónada, un epitelio que recubre la porción difusa, tejido conjuntivo, gonoductos, folículos gonadales, canales hemolinfáticos, haces de músculo liso interfolicular, otros haces musculares y fibras de colágeno (De la Roche, 2008). A continuación se realiza una breve descripción de estas estructuras.

El epitelio externo de revestimiento rodea la porción discreta de la gónada. Es un epitelio cilíndrico ciliado con menor cantidad de cilios en el borde cóncavo del tercio medio y en el borde convexo del tercio distal. Este epitelio consta de 3 tipos celulares: células con microvellosidades, células ciliadas y mucocitos (Dorange *et al.*, 1989). El epitelio que recubre la porción difusa de la gónada es un epitelio cúbico simple, que se yuxtapone por su parte interna a la glándula digestiva (De la Roche, 2008).

El tejido conjuntivo subepitelial perigonádico, que proporciona soporte y forma a la gónada, está compuesto de fibroblastos y una red de haces de colágeno, y contiene fibras musculares lisas, fibras nerviosas, hemocitos y células globulares (De la Roche, 2008). Este tejido se extiende entre el epitelio de revestimiento y el intestino.

El parénquima de la gónada tiene una organización histológica gonoducto-folicular. Histológicamente, los folículos son estructuras bulbosas que producen y liberan elementos celulares. En el caso de los folículos gonadales, producen y liberan las células de la línea germinal correspondiente. Los folículos están formados de una pared folicular compuesta de fibroblastos y fibras de colágeno, y en su interior presentan una matriz intrafolicular organizada en red y compuesta por un tejido de sostén con fibroblastos y fibras de colágeno y elastina; en el interior de esta matriz se desarrollan las células de la línea germinal (De la Roche, 2008). Este mismo autor señala que en las paredes de los folículos de *C. varia* se sitúan las células germinales primarias y en el lumen se sitúan el resto de células sexuales en diferentes estadios, existiendo una tendencia a situarse hacia el centro las células más avanzadas en su desarrollo. Los folículos gonadales se abren al exterior por los gonoductos (Román *et al.*, 2002).

Los gonoductos se forman al mismo tiempo que los folículos gonadales (Román *et al.*, 2002). Constan de un epitelio prismático monoestratificado grueso, con células ciliadas y mucocitos hacia la cara interna. Este epitelio aporta flexibilidad al gonoducto y la ciliatura participa en la liberación de los gametos. El epitelio descansa sobre una membrana basal que consta de fibroblastos y fibras de colágeno. Por su tamaño, existen diferentes tipos de gonoductos, que finalmente liberan los gametos en la apertura reno-genital (Beninger & Le Pennec, 2006).

Los haces de músculo liso interfolicular se forman en el tejido conjuntivo. La masa visceral posee gran cantidad de músculos longitudinales y transversales, que podrían jugar un papel importante en la emisión de los gametos (Lubet, 1959).

Los canales (senos) hemolinfáticos se localizan en el tejido conjuntivo y son especialmente abundantes en la periferia de los gonoductos e intestino (Román *et al.*, 2002). Están compuestos de fibras de colágeno y fibroblastos, y en su interior llevan la hemo linfa, formada por hemocitos hialinos y granulocitos.

Por último, señalar los haces musculares y las fibras de colágeno, que se desarrollan en diferentes zonas a lo largo de toda la gónada y poseen la función de dar estructura y sostén a este órgano (De la Roche, 2008).

4.1.2 Gametogénesis

Un ciclo reproductor se puede dividir en 4 etapas principales: el desarrollo de la gónada (gonadogénesis), la gametogénesis, la puesta y la restauración gonadal. La gametogénesis es el proceso de formación de gametos maduros, que son células haploides aptas para formar el cigoto, a partir de las gonias, células diploides del tejido gonadal (Velasco, 2008). En el proceso gametogénico se puede diferenciar una primera fase de multiplicación mitótica de las gonias, dos divisiones meióticas posteriores, y finalmente una diferenciación celular (Dohmen, 1983). El resultado final son los gametos, únicas células del organismo, altamente diferenciadas y especializadas, que son capaces de generar un nuevo organismo (Wylie, 1999).

Entre la espermatogénesis (producción de espermatozoides) y la ovogénesis (producción de ovocitos) existe una diferencia fundamental. La espermatogénesis es un proceso continuo hasta formar los gametos finales, mientras que la ovogénesis es un proceso que, en la mayoría de los organismos con reproducción sexual, se detiene y reanuda en 2 ocasiones (Masui & Clarke, 1979; Greenstein, 2005). Otra diferencia se produce en la división meiótica I, que en el caso de la espermatogénesis es equitativa, mientras que en la ovogénesis no se divide el citoplasma por igual, quedando una célula hija, el ovocito, con casi todo el contenido del citoplasma, y la otra célula hija deviene en el primer corpúsculo polar.

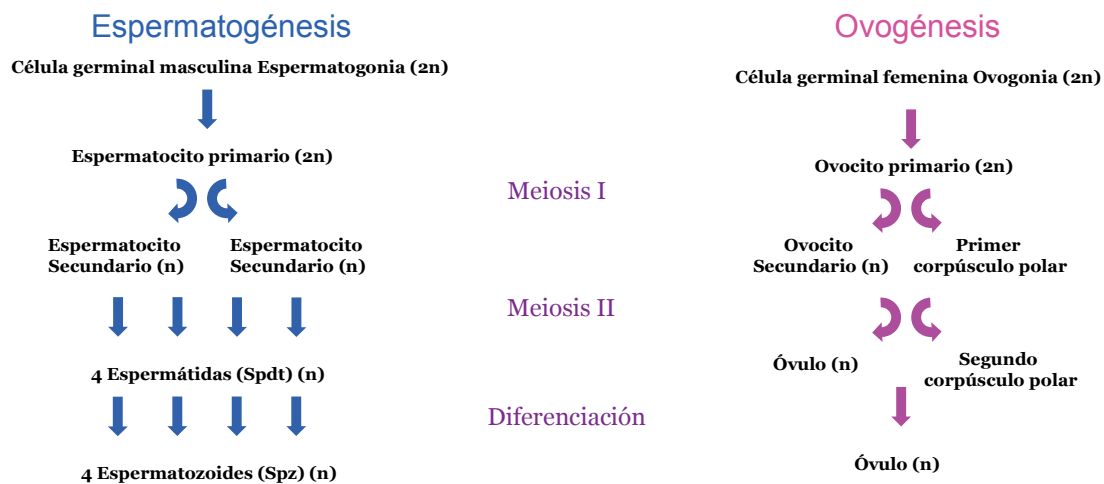


Fig. 4.2. Esquema de la gametogénesis masculina y femenina en *Chlamys varia*.

Diversos autores describen una gametogénesis asincrónica en las diferentes especies de pectínidos en Galicia, lo que permite que se puedan reproducir durante un largo periodo del año (Pazos *et al.*, 1996; Román *et al.*, 2001b; De la Roche, 2008). La gametogénesis asincrónica se corresponde con un proceso de maduración llevado a cabo de manera centrípeta al folículo, situándose las gonias en las paredes foliculares y los gametos maduros en el centro o lumen folicular. Durante la gametogénesis asincrónica se pueden observar grupos de células germinales con diferentes grados de desarrollo o maduración en una misma gónada.

Existen varios factores externos que afectan a la gametogénesis en los moluscos pectínidos, siendo los principales la temperatura (Barber & Blake, 2006) y la disponibilidad de alimento (Sastry, 1979), aunque también pueden ejercer un papel importante el fotoperiodo, la humedad o la pluviometría. En *C. varia* el desarrollo de los gametos está

correlacionado positivamente con la temperatura y el nivel de clorofila *a* (Burnell, 1983) y depende en gran medida de la interacción de estos 2 factores.

Según Román *et al.* (2001b) además de los factores externos, también se produce un control interno de la gametogénesis. Los estímulos externos llegan a los órganos sensoriales y activan un sistema neuroendocrino, provocando la secreción de neurohormonas por las células neurosecretoras de los ganglios cerebropleural y visceral. En *C. varia* se ha demostrado la secreción de este tipo de sustancias reguladoras del ciclo gametogénico (Lubet, 1955). Diversos autores continúan investigando el funcionamiento del sistema de regulación neuroendocrino en los pectínidos, como es el caso de Paulet *et al.* (1993), que relacionan el ciclo gametogénico de *P. maximus* con la variación en el nivel de serotonina en los ganglios cerebral y pedal, así como en el nivel de dopamina en el ganglio visceral. Del mismo modo, se han observado variaciones en los niveles de las prostaglandinas E_2 y $F_2\alpha$ (PGE_2 y $PGF_2\alpha$) durante la gametogénesis de los pectínidos (Osada & Nomura, 1990). En otras especies, como *Patinopecten yessoensis*, Nakamura *et al.* (2007) han sugerido un control neuroendocrino de la proliferación espermatogonial, en el que intervienen neuronas productoras de GnRH de los ganglios cerebral y pedal.

4.1.2.1 Espermatogénesis

La espermatogénesis es la suma de los procesos que finalizan con la producción de espermatozoides en el pectínido adulto (Velasco, 2008). La espermatogénesis parte de las espermatogonias que se encuentran en las inmediaciones de la pared folicular y que van a experimentar repetidas mitosis para aumentar considerablemente su abundancia. El número de mitosis está definido para cada especie, siendo una proliferación extensiva que dará lugar a los espermatoцитos y mantendrá el “pool” de células madre (Phillips *et al.*, 2010). Las espermatogonias tienen la capacidad de autorrenovación periódica, dividiéndose sin perder sus propiedades o bien de continuar la vía de diferenciación para la que están programadas. Posteriormente, estas espermatogonias se diferencian en espermatoцитos primarios ($2n$), que inician una larga profase de la meiosis I. Los espermatoцитos primarios replican su ADN, duplican los cromosomas, y los cromosomas homólogos se aparean. Como resultado de la meiosis I se producen dos espermatoцитos secundarios (n), cada uno de ellos posee cromosomas con sus 2 cromátidas hermanas. Estas células inician entonces la meiosis II produciendo 4 espermátidas (n), que mediante una serie de transformaciones morfológicas graduales, se diferenciarán finalmente en 4 espermatozoides maduros (n), denominándose este proceso espermiogénesis (Velasco, 2008).

La espermatogénesis de *C. varia* fue descrita por Lubet (1959), Lucas (1965) y De la Roche (2008); la de *P. maximus* por Mason (1958), Lubet (1959) y Dorange & Le Pennec (1989); la de *Aequipecten irradians* por Sastry (1966); la espermatogénesis de *Placopecten magellanicus* por Naidu (1970); la de *Flexopecten glaber* por Le Pennec *et al.* (2006) y la de *Nodipecten subnodosus* por Maldonado-Amparo *et al.* (2004).

4.1.2.2 Ovogénesis

Durante la ovogénesis, las ovogonias ($2n$) situadas en la pared folicular sufren repetidas mitosis aumentando considerablemente su número y seguidamente se diferencian en ovocitos primarios ($2n$) (Fabioux, 2004). Posteriormente, da comienzo la primera división meiótica (MeI) en la que los ovocitos primarios replican su ADN y los cromoso-

mas homólogos se aparean. Esta división se detiene en la profase de la meiosis I (Lucas, 1984), pudiendo estar frenada de unas horas a unos días (Fabioux, 2004). A continuación, los cromosomas se condensan, se pierde la membrana nuclear y los cromosomas replicados se dividen entre las 2 células hijas, que tendrán la mitad del material cromosómico inicial. A continuación, el citoplasma se reparte asimétricamente, obteniéndose 1 ovocito primario voluminoso y 1 corpúsculo polar. A continuación, se produce la segunda división meiótica (MeII), que por lo general coincide con la fertilización. Las 2 cromátidas hermanas de cada cromosoma se separan y el citoplasma del ovocito se reparte nuevamente de manera desigual, dando 1 ovocito secundario (n) maduro y un segundo corpúsculo polar. Finalmente, los corpúsculos degeneran y se obtiene un óvulo maduro (n) (Fabioux, 2004).

El proceso meiótico en la hembra es un proceso discontinuo. En la mayoría de los moluscos bivalvos el ovocito realiza una primera frenada meiótica en profase I (zigoteno-paquiteno), marcando el estadio de ovocito inmaduro (Lubet, 1996), que se caracteriza por presentar un núcleo prominente llamado vesícula germinal (GV), compuesto de cromatina descondensada (Lucas, 1984). La rotura de la GV (GVBD, Germinal Vesicle Breakdown) se produce como respuesta a un estímulo y puede continuarse la meiosis (Néant & Guerrier, 1988). Posteriormente, se produce una segunda frenada del proceso meiótico, durante la cual los ovocitos adquieren la capacidad de ser fecundables (Longo, 1983), como resultado de que los cromosomas, que antes permanecían condensados, tras la rotura pueden mezclarse con el contenido citoplasmático.

La ovogénesis de los pectínidos fue descrita por distintos autores como Coe (1945) o Motavkine & Varaksine (1983); en la especie *C. varia* la describieron Lubet (1959) Reddiah (1962), Lucas (1965) y De la Roche (2008); en *P. maximus* Mason (1958), Lubet *et al.* (1987) y Pazos *et al.* (1996); en *A. opercularis* Allarakh (1979); en *Argopecten irradians* y *Chlamys farreri* Xin-hong *et al.* (2002); y en *Patinopecten yessoensis* fue descrita por Chung *et al.* (2005).

4.1.3 Ciclo reproductor

Una característica de los moluscos pectínidos es que se puede diferenciar claramente la gónada del resto de su anatomía, lo que permite observar con facilidad los cambios a nivel macroscópico. A medida que la gónada madura, aumenta en tamaño y peso, se redondea y los gametos se vuelven más numerosos y aumentan su tamaño. Por el contrario, tras la puesta y la liberación de los gametos, las gónadas decrecen y pierden color.

En los Pectínidos se pueden caracterizar las diferentes fases del desarrollo gonadal en base a su apariencia externa, existiendo 5 clases principales: gónadas vacías o en reposo, gónadas en proceso de llenado o en activación, llenas (maduras) cuando finalizan todo el desarrollo gonadal, en puesta parcial o tras realizarse la puesta cuando se produce la reconstrucción gonadal (Barber & Blake, 2006). Estos cambios que se producen en la gónada durante su desarrollo, están correlacionados con los cambios que ocurren en el tejido germinal, que se localiza en su interior, y que Sastry (1979) describe como reposo sexual, proliferación de gonias, desarrollo (inicio y final de la gametogénesis), maduración, puesta de los gametos maduros y restauración de la línea germinal.

4.1.3.1 Estadíos del ciclo reproductor

A partir de las observaciones de los cortes histológicos gonadales se suelen elaborar escalas gametogénicas que se basan en datos cualitativos de tipo descriptivo. Estas escalas consisten en una serie de estadíos que definen los distintos momentos de la gametogénesis en que se encuentra el desarrollo de la gónada durante el ciclo reproductor.

Varios autores han desarrollado escalas de desarrollo gonadal para diferentes especies de moluscos bivalvos, dentro de las cuales destacan la escalas de desarrollo gonadal de Chipperfield (1953), Lubet (1959), Reddiath (1962), Lucas (1965) y Sastry (1966).

En base a la escala de desarrollo gonadal propuesta por Lubet (1959), en este estudio se han diferenciado y descrito para *C. varia* tanto los estadíos de la fase sexual masculina (♂) como los estadíos de la fase sexual femenina (♀).

4.1.3.2 Temporalidad del ciclo reproductor

Como ya se ha comentado, la reproducción de *C. varia* tiene un patrón estacional, por lo que es sumamente importante conocer la distribución de los estadíos de desarrollo gonadal a lo largo del tiempo, es decir, la sucesión de las distintas fases de su ciclo reproductor. Del mismo modo, también es interesante observar si dicha sucesión se realiza de forma sincrónica o asincrónica entre los individuos de una población, en cuyo caso podrían ocurrir puestas en distintos momentos del año por grupos de individuos.

Los estudios sobre el ciclo reproductor de las poblaciones de *C. varia* de la Isla de Mann (Reddiath, 1962), en la costa oeste de Irlanda (Burnell, 1983), en Francia (Lubet, 1959; Lucas, 1965; Shafee & Lucas, 1980; Perodou & Latrouite, 1981) o en España (De la Roche, 2008) coinciden en señalar la existencia de un patrón semianual, con diferencias en la temporalidad de las diferentes etapas gametogénicas y de puesta. Estas variaciones (entre diferentes regiones e interanuales) parecen estar relacionadas con un gradiente latitudinal y con el régimen local de variables ambientales como la temperatura y el alimento.

Según Williams & Babcock (2005), un individuo es funcionalmente maduro cuando comienza a reproducirse. El cálculo de la talla de la primera maduración de la zamburiña en una zona como Galicia es de máxima importancia, ya que este dato se puede emplear para proteger un stock susceptible de ser capturado. Para ello se establece una talla legal mínima de captura, que debe ser mayor que la talla de la primera maduración. Román *et al.* (2001b) observan que los pectínidos de interés comercial en Galicia (zamburiña, volandeira y vieira) alcanzan su primera madurez sexual con una edad menor a un año de vida. Sexualmente hablando *Aequipecten opercularis* (volandeira) es el pectínido más precoz de los tres, ya que alcanza la madurez sexual en menos de 4 meses, con una talla aproximada a los 20 mm de altura de concha. *Chlamys varia* (zamburiña) alcanza la madurez con una talla cercana a los 27 mm y, finalmente, *Pecten maximus* (vieira) con una talla aproximada a los 56 mm de altura (Acosta & Román, 1994). Sin embargo, la talla de maduración puede variar entre diferentes poblaciones dentro de la misma especie (Bonardelli & Himmelman, 1995; Cruz *et al.*, 2000), entre diferentes regiones y entre distintos años, por lo que es necesaria una comprobación periódica por medio de muestreos de campo.

4.1.4 Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo

La caracterización externa del sexo de los pectínidos es una tarea complicada. Investigadores como Dalmon (1938) afirmaban que el color de la gónada en los moluscos caracterizaba cada sexo a nivel macroscópico. Posteriormente, Reddiah (1962) propuso para *C. varia* una graduación de colores para cada uno de los sexos, variando desde el marrón pálido al blanco en los machos y desde un amarillo pálido a oscuro en las hembras. Sin embargo, esta graduación no dejaba de ser subjetiva y difícil de definir. Para mayor complicación, Lubet (1959) describió 2 tipos de gónadas femeninas en *C. varia*, blancas y amarillas, que le hicieron pensar en la existencia de 2 tipos de ovocitos en cuanto a la pigmentación del vitelo. Sin embargo, Lucas (1965) propuso que la diferente coloración de las gónadas femeninas probablemente se debía a las diferentes fases reproductivas en las que se encontraba la gónada. Finalmente, tanto Lubet como Lucas resuelven el problema señalando que el color de la gónada en esta especie no es suficiente para caracterizar el sexo del individuo, siendo también necesario un examen microscópico de la gónada.

La determinación sexual puede estar influenciada por factores internos (genéticos u hormonales) o por las condiciones ambientales y sociales (Wilczynski, 1959; Fig. 4.3.). Sin embargo, no se ha llegado a conclusiones definitivas en relación a cuales de estos factores afectan en mayor medida a la determinación sexual de los bivalvos. En el caso de *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), la diferenciación sexual parece estar determinada por el locus de un gen con un alelo masculinizante y otro protándrico feminizante (Guo *et al.*, 1998). Según Paz (2001), en especies como *P. maximus*, *A. opercularis*, *M. edulis*, *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) u *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758), al diferenciarse los espermatozoides o los ovocitos se producen señales de reconocimiento de proteínas como la esterasa y la fibronectina y por sobreexpresión de una de ellas en la gónada somática se activan las células germinales. Así, en el caso de la sobreexpresión de la esterasa se produciría un macho y si se manifestase más activamente la fibronectina equivaldría a una hembra. Méndez Felpeto (2001) demuestra la existencia en la gónada de los pectínidos de una proteína similar al polipéptido asociado a la gónada masculina “MAP” de *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), que se expresa predominantemente en la parte masculina de la gónada y que muestra gran paralelismo con las esterases de insectos y mamíferos. Thompson *et al.* (1996) proponen, sin embargo, que son las hormonas las que controlan en mayor medida la diferenciación sexual, mientras que otros autores, como Coe (1941), definen en diferentes moluscos que los factores ambientales, como la disponibilidad de alimento o la temperatura, son los determinantes del sexo.

En este estudio histológico se adoptan los conceptos de “fase sexual”, “serie gametogénica”, “cambio de sexo”, “fase sexual funcional”, “fase sexual latente o no funcional” y “sexo funcional” definidos por Silva (2012): Una “fase sexual” (FS) es la expresión celular de un género sexual (masculino o femenino) en toda la gónada de un animal; en este caso, un molusco. Una “serie gametogénica” (SG) es una secuencia de tipos celulares que, generados a partir de una sola gonía (espermatogonia u ovogonia) produce gametos maduros; por tanto, una fase sexual es el conjunto de series gametogénicas en desarrollo, o ya maduras, en la gónada del molusco. Las series gametogénicas de una fase sexual pueden tener diferentes grados de desarrollo, es decir, diferentes grados de madurez. Una gónada está madura cuando su fase sexual está madura, es decir, cuando las series gametogénicas que constituyen la fase sexual han producido los gametos, o

sea, han madurado. El “cambio de sexo” (CS) es el cambio de fase sexual en toda la gónada del molusco, es decir, una fase sexual sustituye a otra. Cuando un molusco bisexual produce simultáneamente las dos fases sexuales, pero con diferente grado de desarrollo de sus respectivas series gametogénicas, la fase sexual que tiene mayor grado de desarrollo -la más avanzada hacia la madurez- es la “fase sexual funcional” (FSF), determina el “sexo funcional” del molusco, y es la fase sexual que emitirá sus gametos en la próxima puesta. La fase sexual con menor grado de desarrollo, y que no emitirá sus gametos en la próxima puesta, la denominamos “fase sexual latente o no funcional” (FSL); y esta fase, aunque está presente, no determina el sexo funcional del molusco. El “sexo funcional” de un molusco bisexual es el de los gametos maduros que va a emitir en la próxima puesta. Si el molusco produce las dos fases sexuales, masculina y femenina, con diferente grado de desarrollo, la fase sexual más avanzada en desarrollo determina el sexo funcional del animal.

La zamburiña es un organismo bisexual (hermafrodita) que expresa dos fases sexuales, una fase sexual masculina (FS♂) y una fase sexual femenina (FS♀), y lo hace de modo secuencial (Lubet, 1959; Reddiah, 1962; Lucas, 1965; Burnell, 1983; De la Roche, 2008).

El cambio de sexo (inversión o reversión sexual) es un proceso presente en los hermafroditas secuenciales, mediante el cual los animales reorganizan sus gónadas para producir el tipo de gametos opuesto al producido en la última maduración sexual (Warner *et al.*, 1975; Allsop, 2003). El cambio de sexo implica la existencia de una sola fase sexual (FS♂ o FS♀) que se desarrolla hasta producir gametos maduros y, por lo tanto, sólo se pueden observar en la gónada las series gametogénicas de dicha fase sexual (FS). Cuando en esta situación, y tras la puesta, surge la otra fase sexual, que desarrolla sus series gametogénicas (SSG) hasta la madurez y es funcional produciendo el otro tipo de gametos, entonces ocurre el cambio de sexo.

Existen diferentes estrategias de cambio de sexo en los animales, pero en general los individuos cambian de sexo como un mecanismo que les permite aumentar su éxito reproductivo (Munday *et al.*, 2006). Los hermafroditas secuenciales pueden ser individuos que comienzan su vida con un sexo funcional durante un tiempo y cambian a medida que crecen en talla y/o en edad, experimentando un solo cambio de sexo (Ghiselin, 1969; Burnell, 1983), o bien individuos que cambian de sexo repetidamente durante su vida en respuesta a las condiciones ambientales, considerándose entonces organismos con cambio de sexo alternativo (Coe, 1931). El cambio de sexo es por lo tanto una respuesta adaptativa al contexto ecológico-social (Fig. 4.3.). Si este contexto varía, surgirán los diferentes modos de cambio de sexo en una especie y entre especies (Munday *et al.*, 2006).

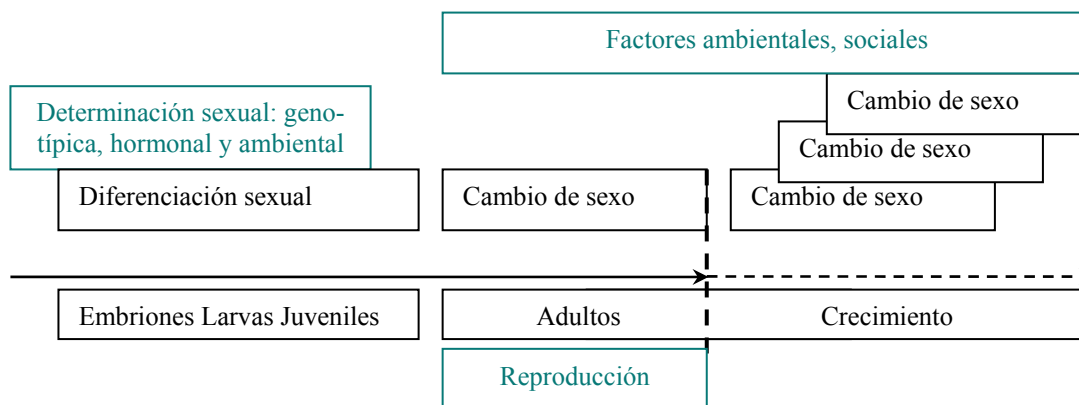


Fig. 4.3. Factores que regulan el cambio de sexo, esquema modificado de Piferrer (2009). La diferenciación sexual, que puede ocurrir durante la fase de embrión, larva o juvenil, está influenciada tanto por factores internos como por las condiciones ambientales. El cambio de sexo se produce en los individuos adultos y está regulado por factores externos.

Policansky (1982) afirma que el cambio de sexo, sin llegar a ser común, es un fenómeno ampliamente extendido en el reino animal, y que la asignación facultativa de sexos con posibilidad de reciprocidad amplía las oportunidades sexuales de las especies. Este mismo autor señala que los moluscos y los peces son los grupos taxonómicos en los que se ha encontrado un mayor número de organismos cambiadores de sexo. Además, en general, se encuentran más cambiadores de sexo en el mar, seguido del agua dulce, siendo menos frecuente en organismos terrestres. Investigadores como Chen *et al.* (1998) opinan que los cambiadores de sexo suelen ser especies con un crecimiento indeterminado, y flexibles en la programación de su desarrollo. Existen muchas especies de pectínidos con capacidad de cambiar de sexo, como *C. varia* (Policansky, 1982), *Anachlamys flabellata*, *Comptopallium radula* o *Mimachlamys gloriosa* (Lefort & Clavier, 1993), al igual que otros bivalvos como *Ostrea edulis* (Silva, 2012), *Ostrea lurida* (Coe, 1931) o *Mercenaria mercenaria* (Menzel, 1989), o el gasterópodo *Patella kermadecensis* (Creese *et al.*, 1990).

Según la polaridad del cambio de sexo, los hermafroditas secuenciales y los alternativos se dividen en 2 categorías: hermafroditas protándricos o proterándricos, que son aquellas especies en las que los individuos primero actúan como machos (♂) produciendo espermatozoides, y después del cambio de sexo actúan como hembras (♀) produciendo ovocitos, como es el caso de *Ostrea edulis* (Silva, 2012), *Ostrea lurida* (Coe, 1931), *Teredo navalis*, *T. diegensis* o *Bankia setacea* (Coe, 1941); y hermafroditas protogínicos, que son aquellas especies en las que los individuos primero actúan como ♀, produciendo ovocitos, y después del cambio de sexo actúan como ♂ produciendo espermatozoides, como los peces *Synbranchus marmoratus* (Lo Nostro *et al.*, 2004) o la mayoría de las especies del género *Centropyge* (Callan, 2007). Pelseneer (1995) señala que, en general, la mayoría de las especies hermafroditas muestran el primero de estos patrones. Varios son los autores que han intentado dar una explicación a la prevalencia de la protandria, como Coe (1943a), que opina que por regla general los ovocitos no maduran hasta que se haya producido alguna descarga de los espermatozoides. Sin embargo, Hoagland (1978) explica que esta abundancia se debe a que las hembras adultas normalmente producen más ovocitos que las más pequeñas, mientras que los machos pequeños sin embargo pueden fertilizar de igual forma grandes cantidades de ovocitos. Además, Leonard (2006) añade que en los animales cambiadores de sexo, la relación de

sexos tiende hacia el primer sexo de su vida, por lo tanto, en el caso de especies protándricas como *C. varia*, los machos predominarían en la población.

4.1.5 Tejido de reserva

Varios autores (Erkan & Sousa, 2002; De la Roche, 2008; Franco, 2008) han descrito la existencia de un tipo celular somático e interfolicular asociado a las células germinales y localizado en el tejido conjuntivo interfolicular presente la estructura de la gónada. Este tipo celular existe en los machos y en las hembras, y también en el ovario y el testículo dentro de una misma gónada hermafrodita (Paz, 2001).

Como ya se señaló en el capítulo anterior, los bivalvos, para satisfacer las demandas metabólicas de la gametogénesis, poseen la capacidad de almacenar nutrientes (glucógeno, lípidos y proteínas) en tejidos especializados como la glándula digestiva, el músculo, el manto (mitílidos), y en el tejido conjuntivo del soma (venéridos).

Además, según Tompa *et al.* (1984), estos moluscos también presentan diferentes tipos de células somáticas especializadas en almacenar y movilizar nutrientes, como son las células vesiculares y las adipogranulares. Las células vesiculares (VC) sirven de almacén de glucógeno, y han sido descritas con varias denominaciones, como es el caso de “células de mucus” (List, 1902), “lagunas” (Leenhardt, 1926), “células de Langer” (Lucas, 1965), “células de Leydig” o “glucogénicas” (Gimeno *et al.*, 1991), estando ampliamente distribuidas en los invertebrados (Álvarez, 2005). Pero además, en algunos grupos como en los mitílidos, se pueden observar también células adipogranulares (ADG), almacenadoras de proteínas, lípidos y glucógeno (Pipe, 1987; Lenoir, 1989).

A pesar de las anteriores apreciaciones, sin embargo, la opinión generalizada es que la familia *Pectinidae* no presenta células especializadas en el almacenamiento de energía en las gónadas (Allarakh, 1979; Strohmeier *et al.*, 2000), al contrario de lo encontrado en las gónadas de otros bivalvos (Mathieu & Lubet, 1993). En consecuencia, los pectínidos conseguirían los metabolitos necesarios para el desarrollo gonadal a partir del alimento ingerido, o bien, se implicaría a las células musculares como las responsables del almacenamiento de reservas proteicas (Epp *et al.*, 1988).

4.2 Material y métodos

Para el desarrollo del estudio histológico del ciclo reproductor de *Chlamys varia* en Galicia se utilizó una población de zamburiña producida en criadero o “hatchery” en las instalaciones del IEO de A Coruña. Posteriormente la semilla fue cultivada en cestas suspendidas de una batea perteneciente al IEO y situada en la zona de Lorbé de la Ría de Ares-Betanzos.

Para el transporte de las zamburiñas entre el laboratorio y la batea se empleó la embarcación oceanográfica “Lura” del IEO de A Coruña, que posee una eslora de 14,3 m. y una manga de 4 m.

4.2.1 Sistema de cultivo

El sistema de cultivo seleccionado fue el cultivo suspendido en batea, introduciendo las zamburiñas en cestas de engorde planas y cilíndricas de material plástico, constituidas por cuatro cuarterones que permitían realizar replicados de los cultivos. Las cestas de cultivo son descritas en el apartado de “Material y métodos” del Capítulo 3. Las pilas o columnas de cestas fueron colocadas en cada cuerda a 6 m de profundidad y la densidad de cultivo fue variando dependiendo del tamaño de los ejemplares estabulados en las cestas. Se comenzó el estudio el día 10 de abril de 2006 con individuos mayores de 7 mm de altura de la concha, dispuestos a una densidad de 200 zamburiñas/cuarterón, que fueron desdobladas a medida que aumentaba la talla de la semilla. Los desdobles tuvieron lugar el día 26/01/07, pasando a 60 ejemplares por cuarterón y, finalmente, el 7/03/08 fueron de nuevo desdobladas a 30 zamburiñas/cuarterón.

4.2.2 Material biológico

La población de zamburiña fue obtenida por puesta inducida en las instalaciones del Centro Oceanográfico de A Coruña del IEO el 10 de enero de 2006. Tras un periodo de adaptación en laboratorio de 3-5 meses, la semilla de zamburiña mayor de 7 mm fue transportada al mar para su cultivo en suspensión en la batea que posee el IEO en la zona de Lorbé de la Ría de Ares-Betanzos, durante los meses de abril-junio de 2006. Los muestreos se llevaron a cabo con una periodicidad de 15 días desde los 8,5 meses hasta los 31 meses de edad. En cada muestreo, además de las determinaciones de medidas y pesos correspondientes, se reservó una submuestra de 6 zamburiñas para realizar los análisis histológicos.

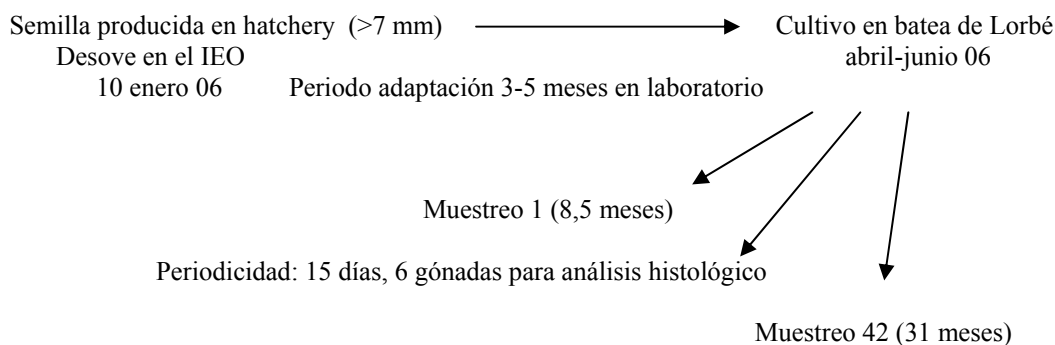


Fig. 4.4. Esquema del estudio histológico del ciclo reproductivo de *Chlamys varia* producida en criadero y cultivada en suspensión en la Ría de Ares-Betanzos.

4.2.3 Procesado histológico

A partir de las submuestras tomadas quincenalmente, se realizaron preparaciones histológicas de la gónada de *C. varia* para poder estimar el grado de madurez gonadal de una manera más precisa, ya que el análisis histológico del tejido gonadal es el único que permite un estudio en detalle del proceso gametogénico y gonadogénico en los moluscos bivalvos (Williams & Babcock, 2004).

Para realizar el análisis se empleó únicamente la porción discreta de la gónada, ya que la porción difusa solamente está presente cuando el desarrollo de la gónada está en su fase más avanzada y este estudio trata específicamente sobre la génesis gonadal. Para llevar a cabo las preparaciones histológicas se empleó el procedimiento descrito por Hernández Córdova (2000), que consiste en el procesado de las muestras gonadales y el montaje de las preparaciones histológicas para su estudio. Estos pasos metodológicos se describen a continuación:

Procesado de las muestras de gónada

Fijación de las gónadas en Bouin

En cada muestreo, tras finalizar la disección, se sumergieron las gónadas en el líquido fijador Bouin en una relación 20:1 (volumen de fijador: volumen de gónada) durante un tiempo entre 30 min-2 h, según el tamaño de la gónada. Cuando el tamaño de la gónada es grande, se secciona horizontalmente en dos partes para favorecer la penetración del fijador.

Composición del Bouin:

Solución saturada de ácido pícrico en agua de mar: 750 mL

Formaldehído al 40 %: 250 mL

Ácido acético glacial: 50 mL

Aclarado

Después de fijar las muestras, las piezas se aclaran con varios cambios de alcohol 70% para retirar el ácido pícrico; el último cambio de alcohol 70% tiene que quedar totalmente claro. Las muestras pueden quedar en alcohol 70% hasta su posterior procesamiento.

Deshidratación

A continuación del aclarado, las piezas se deshidratan y aclaran con los siguientes pases sucesivos por alcohol y xilol:

Alcohol etílico al 96%: 1 pase de 1 h.

Alcohol etílico al 100%: 2 pases de 1 h cada uno.

Aclarado con xilol: 2 pases de 1/2 h cada uno.

Impregnación en parafina

Seguidamente, las piezas se impregnan con parafina del siguiente modo: se pasan las piezas por dos baños consecutivos de parafina líquida a 58 °C (estufa) durante 4-5 h, el primer pase, y durante 12-24 h el segundo.

Inclusión en bloques de parafina

Finalizada la impregnación, con las piezas, ya embebidas en parafina, se procede a la realización de los bloques. Se depositan las piezas en moldes que contienen parafina

líquida, se dejan solidificar a temperatura ambiente y seguidamente se refrigeran a 6-7 °C para endurecer el bloque. En este paso se orienta la pieza para obtener la superficie de corte elegida.

Seccionado de las piezas

Se realizaron cortes de 3 µm en un microtomo Microm modelo “HM-340E”. Se depositan los cortes en un baño de flotación, con agua a 40-42 °C, para su estiramiento y selección.

Confección de los portas

Los cortes se colocan estirados sobre un portaobjetos y se secan en estufa (15 min, 58 °C) para que se adhieran al vidrio y evitar desprendimientos.

Desparafinado y rehidratación

- Desparafinado con xilol: 2 pases de 5 minutos cada uno.
- Rehidratación en cadena de alcoholes de graduación descendiente:
 - Alcohol 100%: 2 pases de 5 minutos cada uno.
 - Alcohol 96%: 1 pase de 5 minutos.
 - Alcohol 70%: 2 pases de 5 minutos cada uno.

Tinción

Seguidamente se procede a la tinción de los cortes. La tinción de los cortes se realizó empleando el colorante Tricrómico de Wheatley (1951) durante 5 segundos y con agitación suave. La solución tricrómica de Wheatley es una modificación de la tinción tricrómica de Gomori (1950) y su formulación es la siguiente:

Chromotrope 2R:	0,6 g
Light green SF:	0,15 g
Fast green FC:	0,15 g
Phosphotungstic Acid:	0,7 g
Acetic Acid (glacial):	1,0 mL
Distilled H ₂ O:	100 mL

La formulación del colorante tricrómico de Wheatley se adquirió comercialmente como producto comercial Para-Pak Trichrome Stain (Meridian Bioscience, Inc., USA).

El Cromotrope 2R tiene afinidad por la cromatina, tiñéndola de rojo o rojo púrpura, mientras que el Light Green y el Fast Green tiñen los citoplasmas de color verde azulado. Así mismo esta tinción tricrómica resalta muy bien los fibroblastos y las fibras de colágeno.

A continuación, el proceso de tinción se frena con la denominada “**Solución B**” (ácido acético al 10% v/v en etanol del 90%). Se realiza un pase en esta solución durante 30-60 segundos y con agitación suave.

Deshidratación posttinción

- Lavado en alcohol del 96 %: 1 pase de 15 segundos.
- Alcohol del 96 %: 1 pase de 5 minutos.
- Alcohol del 100%: 2 pases de 5 minutos.

Aclarado

- Xilol: 2 pases de 5 minutos cada uno.

Montaje de las preparaciones

Para su conservación y posterior estudio microscópico, se procede al montaje de las preparaciones. Sobre cada porta se deposita un cubreobjetos con el medio de montaje DPX.

Estudio histológico de las preparaciones de la gónada

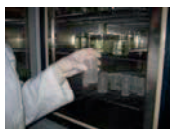
La observación y fotografiado de las preparaciones histológicas se realizó con un microscopio Olympus, modelo “BX-50”, equipado con óptica Plan-apoacromática y un sistema fotográfico PM-20. Las medidas morfométricas se realizaron con un ocular micrométrico calibrado.



Fijación en Bouin y aclarado



Deshidratación



Impregnación en parafina



Inclusión en bloques de parafina



Refrigeración a 6-7 °C

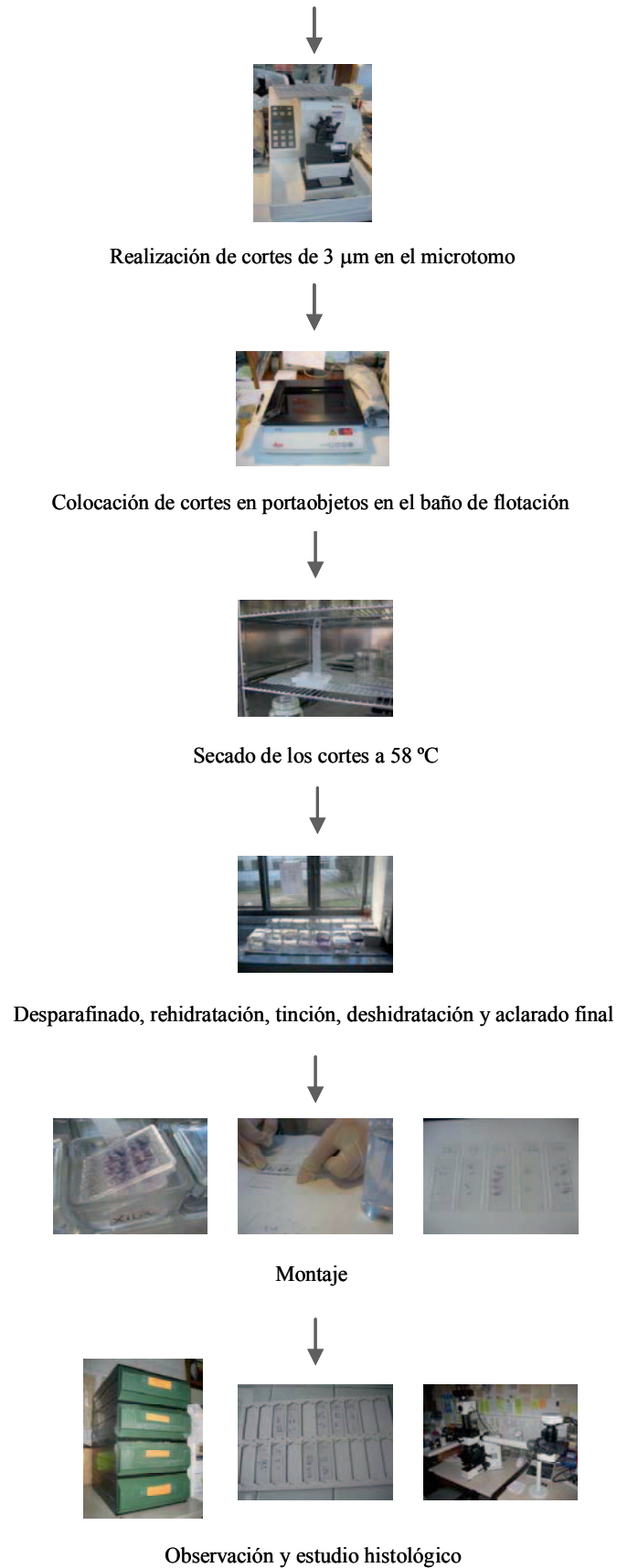


Fig. 4.5. Esquema del procesado, montaje y análisis histológico de las muestras gonadales de *C. varia*.

4.3 Resultados

4.3.1 Gonadogénesis

La gonadogénesis es el inicio y el desarrollo de la gónada como un órgano propio del molusco, constituyéndose en una unidad histo-anatómica del animal. Se ha observado que la gónada ya está presente desde el comienzo de los muestreos quincenales, en ejemplares de *Chlamys varia* de 8,5 meses de edad, cuando la altura media de la concha de los individuos es de 13,7 mm o incluso antes, y que posteriormente se va desarrollando durante el crecimiento del animal al igual que el resto de sus órganos vitales como el aparato digestivo, el pie, la glándula digestiva, el riñón o las branquias.

4.3.1.1 Origen de la gónada y de las células germinales

Según los resultados histológicos obtenidos en este estudio, en el animal juvenil que inicia la formación de su primera gónada, no se han visto células madre germinales (GSC, Germinal Stem Cells) como observa y propone Fabioux (2004) para *Crassostrea gigas*, ni tampoco se ha visto este tipo celular en las sucesivas gónadas que *Chlamys varia* produce en sus ciclos reproductivos durante toda su vida. Así pues, al menos a partir del animal juvenil, en *Chlamys varia*, la serie gametogénica masculina (SG♂) comienza con una espermatogonia -que denominamos espermatogonia 1 (Spg1)- y la serie gametogénica femenina (SG♀) arranca con una ovogonia (Ovg); además ambas series gametogénicas son independientes entre sí, significando con ello que no se derivan de una célula común a las 2 dotada de bipotencialidad sexual. Por tanto, la espermatogonia 1 (Spg1) y la ovogonia (Ovg), que se describen posteriormente con detalle, son las células iniciales fundadoras, respectivamente, de la serie gametogénica masculina y de la serie gametogénica femenina, y deben quedar determinadas durante la embriogénesis del animal, para que cuando surja el juvenil ya esté dotado con estas células germinales.

Desde que el juvenil forma su primera gónada, y en los sucesivos ciclos reproductivos del animal adulto, la gónada es un órgano que surge, se forma, se desarrolla y permanece en el seno del tejido conjuntivo. La gónada tiene entidad histo-anatómica propia y es un sistema cerrado dentro de la anatomía del animal, significando con ello que las células germinales de las series gametogénicas siempre están en su interior y no se han observado espermatogonias ni ovogonias libres en el tejido conjuntivo, como se ha propuesto para *Crassostrea gigas* (Fabioux, 2004).

El juvenil forma su primera gónada a partir de un esbozo -que denominamos esbozo gonadal (EZG)- que surge en el tejido conjuntivo (Fig. 4.6.). A partir de este esbozo se forman los constituyentes de la gónada, y como tales identificamos: a) los gonoductos; b) el tejido conjuntivo intragonoductal; c) las células germinales de las series gametogénicas. El tejido conjuntivo intragonoductal se muestra como una masa celular de aspecto conjuntivo semejante a la descrita inicialmente para *Ostrea edulis* (Silva, 2012) y allí denominada masa celular conjuntiva (MCC), expresión que se adopta. Esta masa celular está constituida, al menos, por dos tipos de fibroblastos cuyo núcleo tiñe de modo diferente, el de unos tiñe de rojo y el de otros lo hace de pardo oscuro. En el seno de esta masa celular conjuntiva están las espermatogonias 1 y las ovogonias, si el animal es bisexual, o sólo las ovogonias en el caso de que sea hembra.

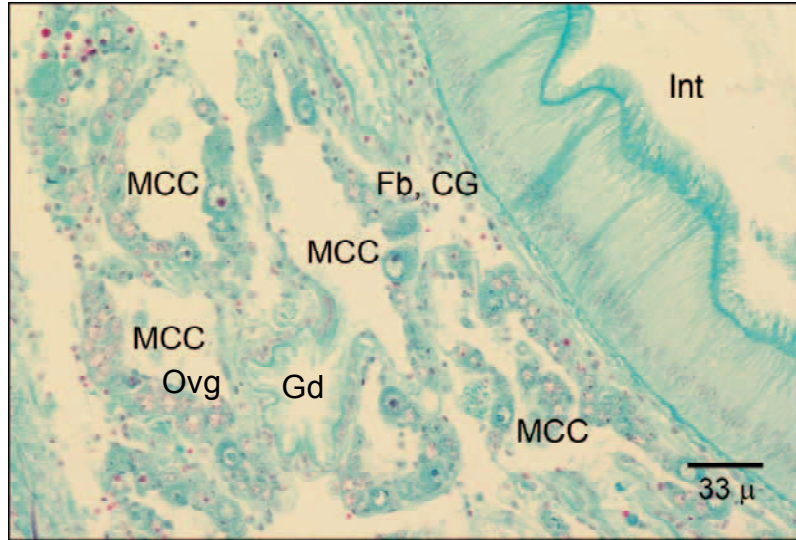


Fig. 4.6. Desarrollo de la gónada primaria en *C. varia*, esbozo gonadal. Fb: fibroblastos, CG: células gonadales, MCC: masa celular conjuntiva, Ovg: ovogonias, Gd: gonoducto, Int: intestino.

Para entender y exponer los resultados de este trabajo acerca de la formación de la primera gónada por el juvenil y, en adelante, las gónadas que produce el adulto en sus sucesivos ciclos reproductivos, hay que enlazar la embriogénesis del animal con la gonadogénesis de la primera gónada por el juvenil, y un intento de tal conexión se representa en el esquema de la Fig. 4.7. Como constituyentes de la primera gónada que forma el juvenil se observan los gonoductos, la masa celular conjuntiva (MCC), así como las espermatogonias 1 y las ovogonias. No se conoce la embriogénesis de la gónada en los moluscos bivalvos, pero sí se sabe algo acerca del origen de las células de su la línea germinal (Woods, 1931; Extavour, 2003). El origen embriológico de los gonoductos y de la MCC deben ser diferentes al de la línea germinal; mientras que los gonoductos podrían tener origen ectodérmico y la MCC sería de origen mesodérmico, las células de la línea germinal no se originan a partir de ninguna de las capas germinales. Las células de la línea germinal tienen un origen propio e independiente, se originan a partir del micrómero d.4 (Woods, 1931; Extavour, 2003). Lo que ocurre es que durante la embriogénesis las células de la línea germinal emigran y se introducen en el mesodermo (origen de los fibroblastos); por ello, cuando el juvenil hace la primera gónada aparecen las espermatogonias y las ovogonias juntamente con los fibroblastos de la MCC, y todos en el interior de los gonoductos; esto es lo que se pretende representar en la Fig. 4.7.

También se observa que cuando el juvenil hace su primera gónada, la formación de los gonoductos, la producción de la MCC y la creación de las espermatogonias y ovogonias son procesos que ocurren prácticamente de modo simultáneo. Así, cuando los tres componentes principales de la gónada inicial están presentes, a saber, gonoductos, MCC y espermatogonias y ovogonias, estas células germinales emprenden la producción de sus respectivas series gametogénicas; esto se observa claramente cuando el animal que está haciendo su gónada primaria es bisexual: en este caso, las espermatogonias desarrollan rápidamente las series gametogénicas masculinas.

Además, en el animal juvenil que hace su primera gónada, las espermatogonias y las ovogonias aparecen como células independientes entre sí en cuanto a su origen, significando con ello que no parece que deriven de una célula anterior y común a ambas, por-

que esta célula no se observa. Por tanto, las espermatogonias y las ovogonias se tienen que especificar en la línea germinal durante la embriogénesis del animal, de tal modo que cuando el juvenil hace su primera gónada ya está implementado con espermatogonias y ovogonias, y a partir de este momento tanto espermatogonias como ovogonias llevan una vida independiente entre sí, y cada una de estas estirpes celulares producen de modo independiente sus respectivas series gametogénicas.

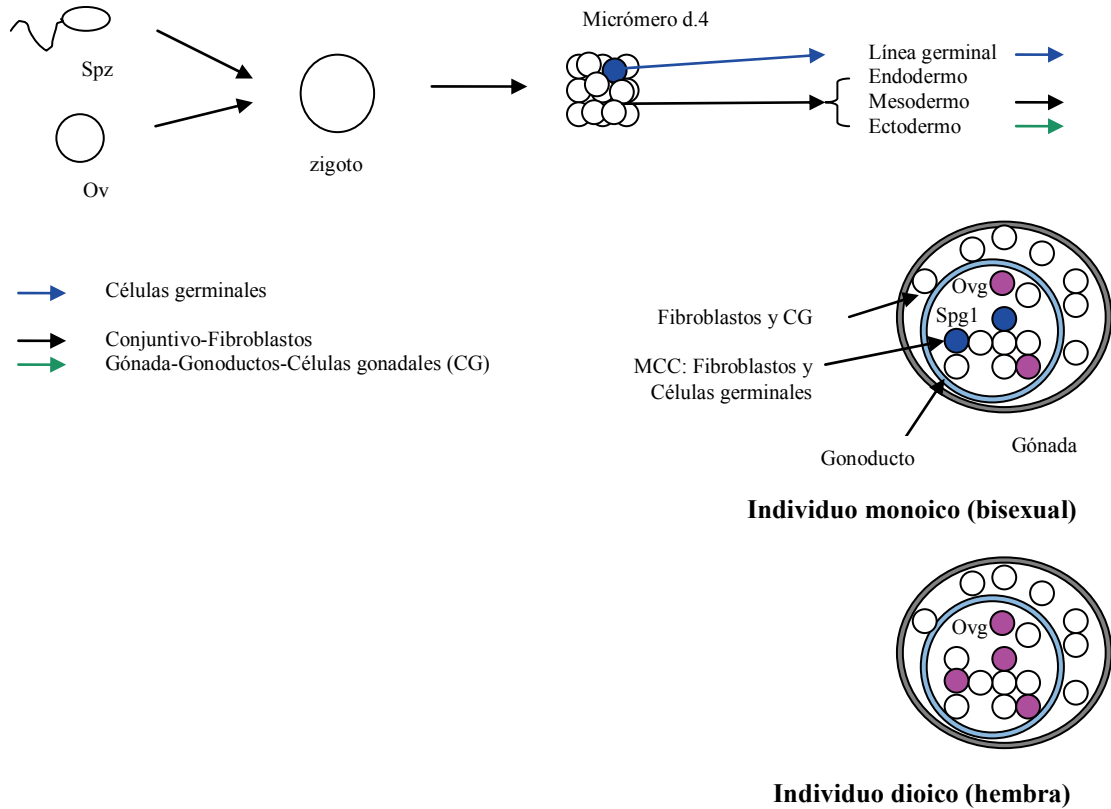


Fig. 4.7. Hipótesis acerca del origen y formación de la gónada de *Chlamys varia*. Las células de la línea germinal tienen un origen embriológico propio e independiente, se originan a partir del micrómero d.4, mientras que los gonoductos podrían tener origen ectodérmico y la MCC sería de origen mesodérmico.

4.3.1.2 Desarrollo de la gónada

En este trabajo se pudo observar que la formación de la primera gónada en *Chlamys varia* comienza en la base del pie, en una situación próxima al riñón, continúa después su desarrollo rodeando al músculo aductor por el costado anterior y presenta la característica de rodear al intestino y a parte del estilo cristalino (Fig. 4.8). A medida que se desarrolla la primera gónada, ocupa un espacio, que denominamos espacio gonadal, que se extiende tridimensionalmente entre el epitelio de revestimiento y el intestino. La formación del intestino, la gónada y el epitelio de revestimiento son simultáneos, y conforme crecen producen la estructura anatómica en lengüeta, característica de los pectínicos, que se agranda siguiendo un eje posterior-anterior.

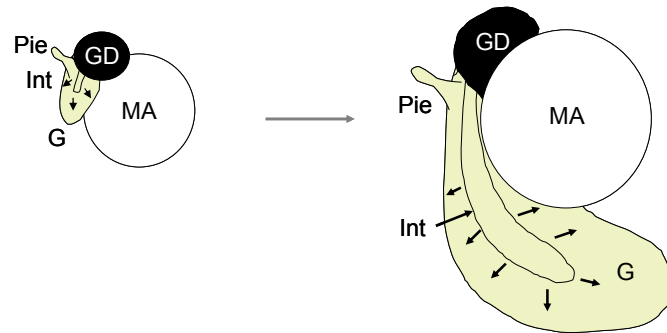


Fig. 4.8. Representación gráfica de la gonadogénesis de la gónada primaria en *Chlamys varia*. Las flechas indican la dirección del desarrollo de la gónada. G: gónada, Int: intestino, MA: músculo aductor, GD: glándula digestiva.

El inicio del desarrollo gonadal en la zamburiña ocurre a edades muy tempranas, desde los 8,5 meses de edad, cuando la altura media de la concha de los individuos es de 13,7 mm, coincidiendo con el momento en el que comenzaron a realizarse los muestreos quincenales de campo o incluso antes, ya que con esa edad un porcentaje de las zamburiñas ya se encontraban en fase de maduración.

4.3.1.3 Estructura de la gónada

Desde el inicio de este estudio, se ha observado histológicamente que el desarrollo de la primera gónada en *C. varia* tiene un orden secuencial. En primer lugar, se comienza a formar el epitelio externo de revestimiento de la gónada y a continuación se desarrolla debajo del mismo el tejido conjuntivo, en el que surgirán progresivamente las estructuras de la gónada: gonoductos, folículos, MCC, espermatogonias y ovogonias. Simultáneamente se forman las fibras de colágeno del conjuntivo, el músculo liso interfolicular, el músculo liso subepitelial y los canales hemolinfáticos. Estos desarrollos incluyen una fase de división mitótica celular tanto de las células somáticas como, si aparecen, de las germinales.

El epitelio externo de revestimiento es una estructura temprana que aparece en el desarrollo de la gónada. En este epitelio se ha observado, desde el inicio del estudio con zamburiñas de 8,5 meses de edad y una altura media de la concha de 13,7 mm, la aparición en el tercio distal de un epitelio especializado con células secretoras de pigmento marrón. Sin embargo, la existencia de este epitelio solamente se dio en un pequeño porcentaje de los ejemplares (16,6 %). Con el desarrollo del epitelio externo de revestimiento, también se desarrolla este epitelio pigmentado, tanto en grosor como en longitud, y aparece en mayor proporción en los individuos de mayor edad/talla. Así, en zamburiñas de 31 meses edad con una altura media de 36,54 mm aparece en el 100% de los animales estudiados (Fig. 4.9.).

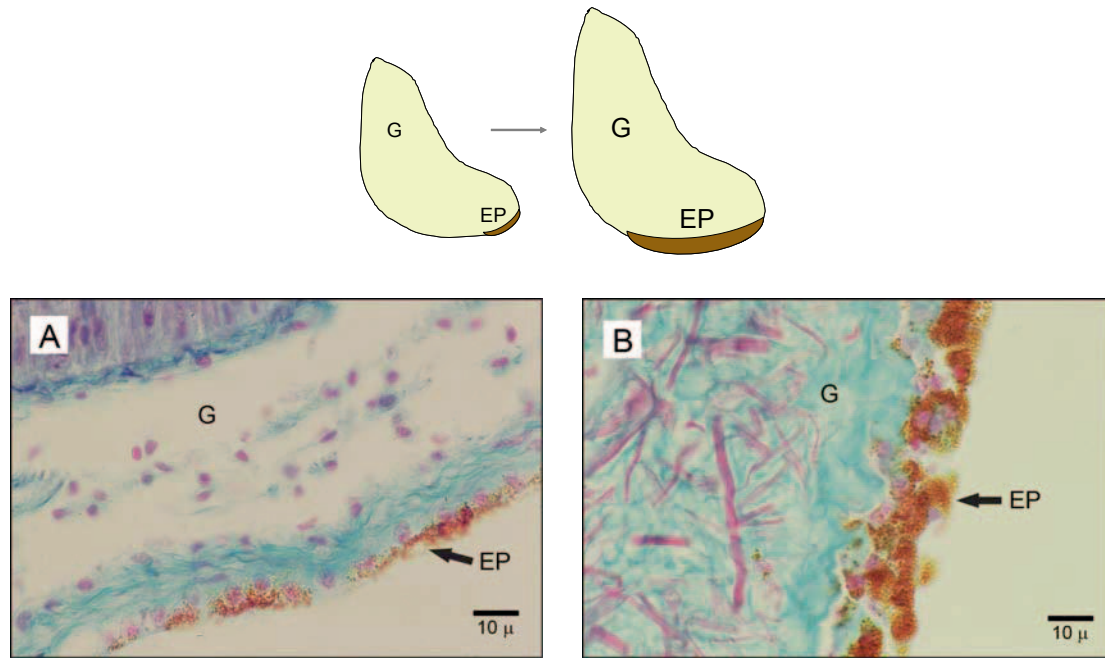


Fig. 4.9. Desarrollo del epitelio pigmentado en la zona distal de la gónada de *Chlamys varia*. A) Gónada primaria en formación, B) Gónada adulta. G: gónada, EP: epitelio pigmentado.

El siguiente paso de desarrollo gonadal consiste en que comienza a formarse, debajo del epitelio externo de revestimiento, el tejido conjuntivo gonadal que, a medida que se va formando la gónada primaria (G1), experimenta numerosas divisiones mitóticas aumentando en cantidad. El lugar donde se ha podido observar el inicio del desarrollo del tejido conjuntivo gonadal en *C. varia* se sitúa rodeando el intestino. Con los resultados obtenidos en este estudio se sugiere que este tejido conjuntivo, además de contribuir al mantenimiento de la estructura gonadal, actuaría como lugar de acumulación de reservas energéticas para las series gametogénicas en desarrollo. Estas reservas se almacenarían en células vesiculares (VC, Vesicular Cells) localizadas en el tejido conjuntivo gonadal, como se explica más adelante en el apartado 4.3.5 referido al tejido de reserva.

En este estudio no se ha observado una separación temporal en la formación de los gonoductos y de los folículos. A medida que se va desarrollando la gónada primaria, se comienza a formar, envuelto en la red de tejido conjuntivo, un sistema gonoductal que se evagina y diverticula, dando lugar así a los folículos gonadales (Fig. 4.10. y Fig. 4.11.). Es posible que si no aparecen las gonias (espermatogonias u ovogonias), no comience el desarrollo de los folículos a partir de los gonoductos, ya que parece que su presencia es inductora de dicho desarrollo. Por lo tanto, el desarrollo de los gonoductos, de los folículos y la presencia de las gonias deben ser simultáneos. Los gonoductos del sistema gonoductal de la gónada que se está formando están constituidos por un epitelio simple prismático y ciliado (Fig. 4.10.), existiendo regiones de gonoductos donde el epitelio es aciliado. Durante la formación de los divertículos a partir de los gonoductos, desaparece el epitelio ciliado de su parte interior, por lo que la pared del divertículo está constituida únicamente por fibroblastos (Fig. 4.10.), y adosadas a ella en su interior comienzan a asentarse las primeras células de la línea germinal, o sea, las gonias (espermatogonias y ovogonias). Por este motivo, se puede afirmar que no aparecen células de la línea germinal fuera del sistema gonoductal en la gónada de *C. varia*. Además, cuando se desarrollan las series gametogénicas masculinas, llegan a la maduración, por lo

que se ha comprobado que ya puede existir maduración sexual de la fase sexual masculina en animales muy pequeños en tamaño y edad.

El lugar donde se localiza el comienzo del desarrollo de los gonoductos es partiendo de la base del pie, extendiéndose alrededor del intestino y entre las asas intestinales. Con respecto al tamaño, se han observado gonoductos con diferentes formas y tallas en la gónada de *C. varia*, dependiendo de la edad de los ejemplares.

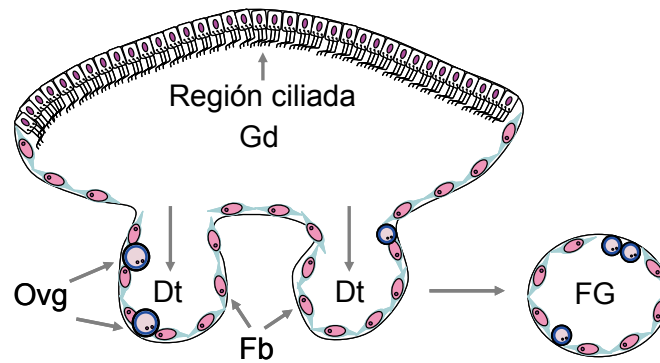


Fig. 4.10. Esquema de la formación de los gonoductos y folículos gonadales en *Chlamys varia*. Gd: gonoducto, Dt: divertículo, FG: folículo gonadal, Ovg: ovogonia, Fb: fibroblasto.

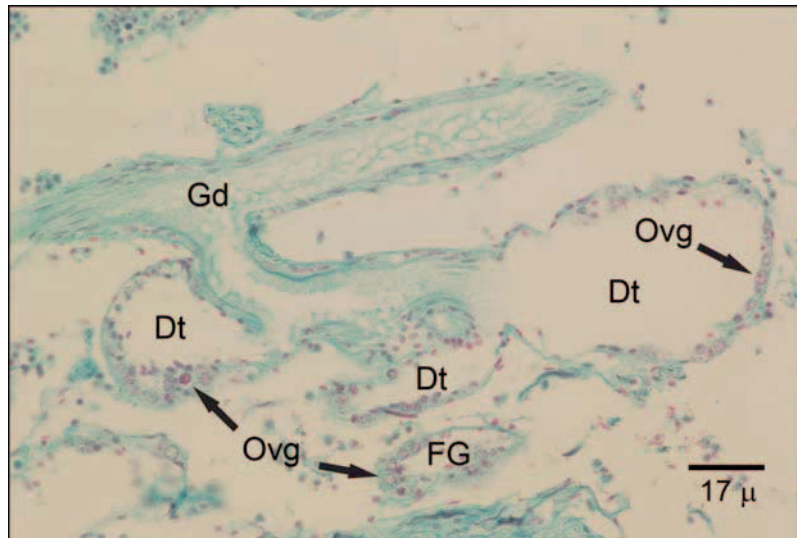


Fig. 4.11. Formación de los gonoductos y folículos gonadales en *Chlamys varia*. Gd: gonoducto, Dt: divertículo, FG: folículo gonadal, Ovg: ovogonia.

También se han observado diferentes tipos de folículos gonadales. Los folículos femeninos son aquellos que solamente presentan células de la línea germinal femenina y los folículos mixtos corresponden a aquellos que presentan células de las 2 líneas germinales, femenina y masculina (Fig. 4.12. y Fig. 4.13.).

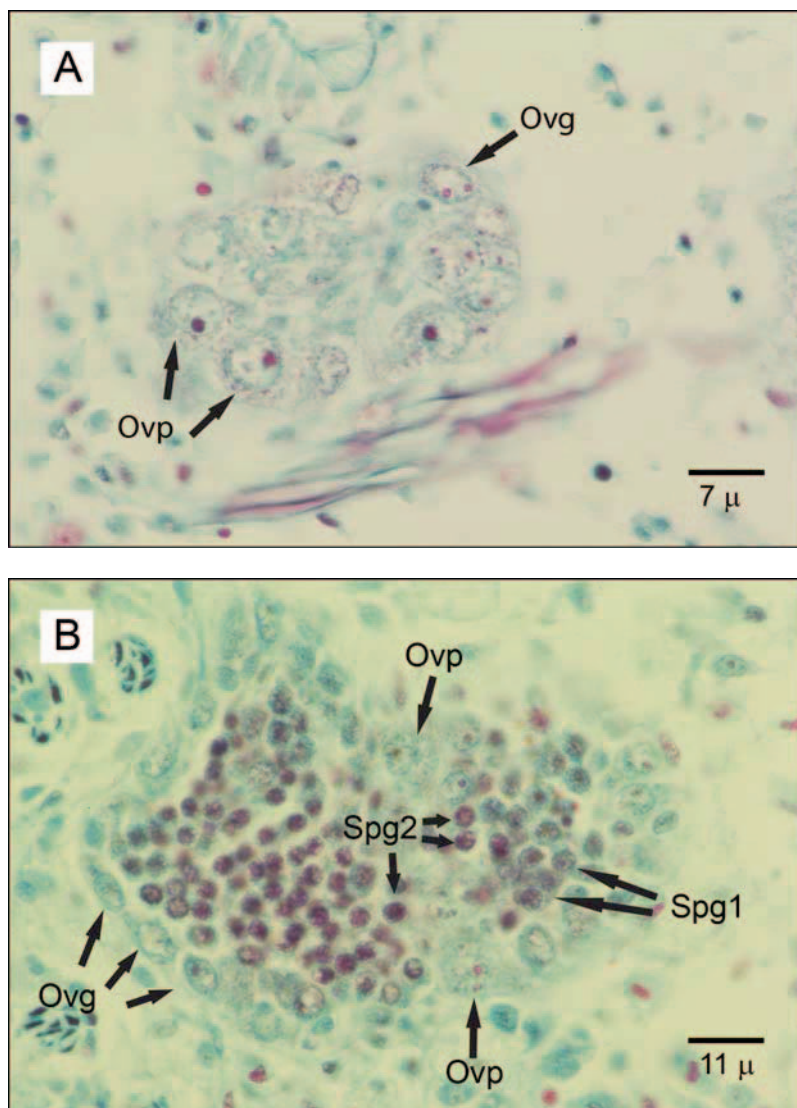


Fig. 4.12. Folículos gonadales presentes en *C. varia*. A) Folículo gonadal femenino, B) Folículo gonadal mixto. Ovg: ovogonia, Ovp: ovocito previtelogénico, Spg1: espermatoгония primaria, Spg2: espermatoгония secundaria.

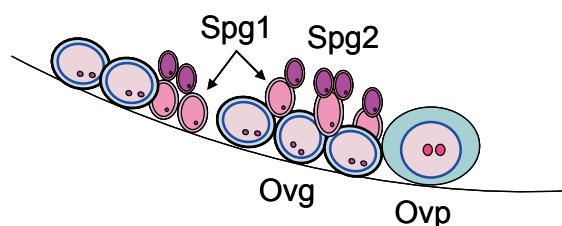
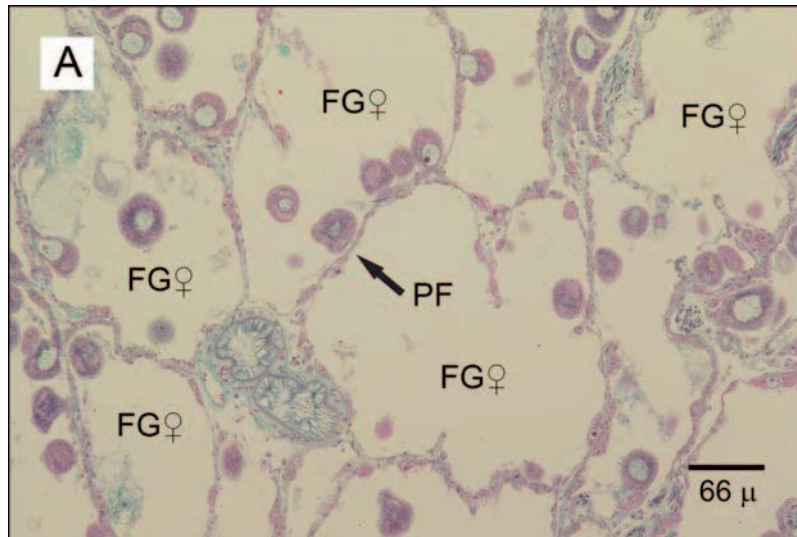


Fig. 4.13. Representación gráfica de la localización de las diferentes células germinales en un folículo mixto de *C. varia*. Ovg: ovogonia, Ovp: ovocito previtelogénico, Spg1: espermatoгония primaria, Spg2: espermatoгония secundaria.

Los primeros folículos en formarse son de pequeño tamaño y presentan varias morfologías (unilobulados, bilobulados, plurilobulados), están delimitados por tejido conjuntivo interfolicular y hay bastante espacio entre ellos. Con la edad y el número de puestas, la gónada de la zamburiña aumenta su tamaño; los gonoductos crecen, se ramifican y diverticulan, y a partir de ellos se forman los folículos; de este modo, se forma una red

folicular profundamente ramificada (Fig. 4.14.). Simultáneamente al crecimiento de los gonoductos y a la formación de los folículos, las espermatogonias y las ovogonias colonizan los folículos a la vez que estos se forman, y así surgen dos tipos de folículos según las líneas germinales que contengan: **A)** folículos gonadales femeninos ($FG_{\text{♀}}$), sólo contienen la línea germinal femenina y, además, toda la gónada sólo tiene este tipo de folículos, o sea, se trata de una animal que es hembra pura en la formación de su gónada primaria ($G1$), esta gónada sólo tiene una fase sexual que es la fase sexual femenina ($FS_{\text{♀}}$), por tanto, es una gónada femenina tanto desde el punto de vista celular como funcional; **B)** folículos gonadales mixtos (FG_m), contienen la línea germinal masculina y la línea germinal femenina, o sea, en un mismo folículo están la fase sexual masculina ($FS_{\text{♂}}$) y la fase sexual femenina ($FS_{\text{♀}}$), y esto ocurre en toda la gónada del animal, que está haciendo su gónada primaria. En este caso sucede que la $FS_{\text{♂}}$ se desarrolla produciendo series gametogénicas que maduran y producen gametos y, en cambio, la $FS_{\text{♀}}$ femenina no desarrolla sus series gametogénicas hasta la madurez, quedando a nivel de ovogonias y, como máximo, ovocitos previtelogénicos que, incluso, entran en atresia. Por tanto, se trata de una animal que cuando hace su gónada primaria la hace como gónada mixta -porque está constituida por folículos gonadales mixtos- pero en esta gónada sólo se desarrolla la $FS_{\text{♂}}$; en consecuencia, el sexo funcional de este animal, o sea, su fase sexual funcional, será el masculino; por tanto, la gónada de este animal es mixta desde el punto de vista celular, y masculina desde el punto de vista funcional; **C)** en los animales con gónada mixta no se han observado, en toda su gónada, folículos gonadales que sólo contengan series gametogénicas femeninas, es decir, la $FS_{\text{♀}}$; **D)** como en *Chlamys varia* hay animales que tienen gónada mixta es una especie *bisexual intersexual*; es *bisexual* porque bastantes de sus individuos son bisexuales (hermafroditas), ya que expresan una fase sexual masculina ($FS_{\text{♂}}$) y una fase sexual femenina ($FS_{\text{♀}}$); además, es *intersexual* porque tales organismos expresan ambas fases sexuales en el interior de los mismos folículos, es decir, las dos fases sexuales no están folicularmente separadas (Fig. 4.15).



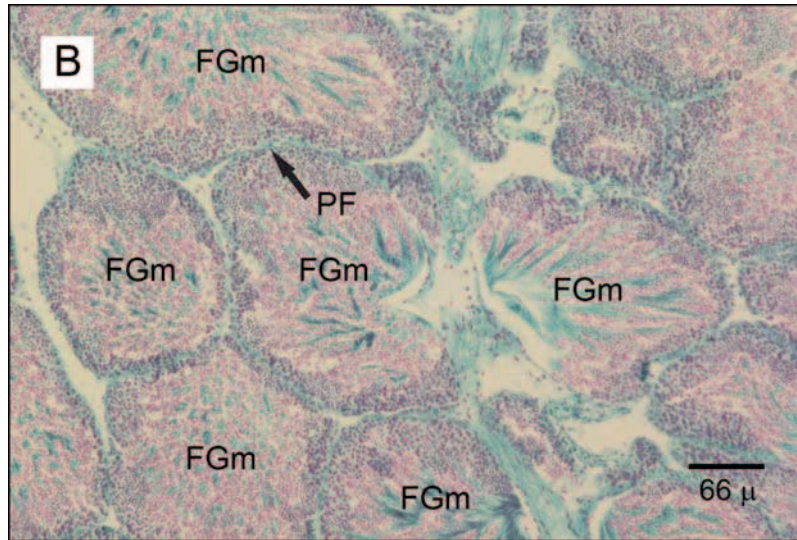


Fig. 4.14. Folículos gonadales con diferentes morfologías presentes en *C. varia*. A) Gónada femenina, B) Gónada mixta. FG♀: foliculo gonadal femenino, FGm: foliculo gonadal mixto, PF: pared folicular.

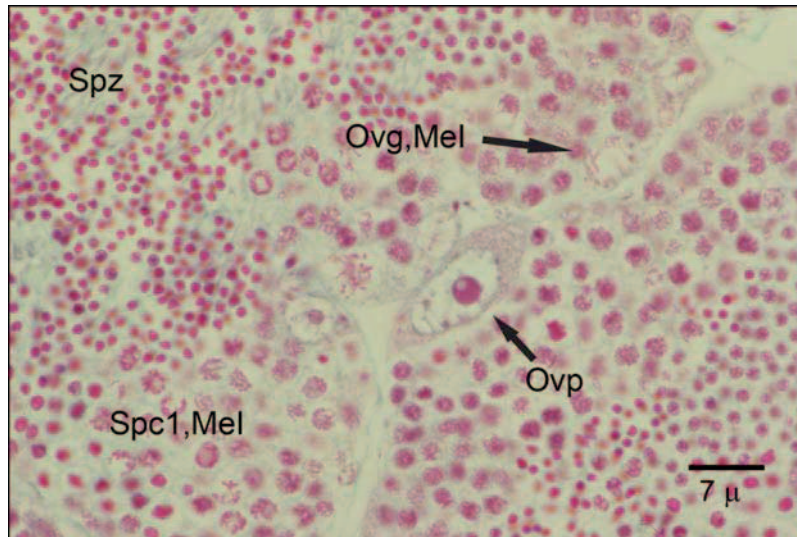


Fig. 4.15. Bisexualidad en la gónada de un ejemplar adulto. Ovg, Mel: ovogonias en meiosis I, Ovp: ovocito previtelogénico, Spc1, Mel: espermatoцитos primarios en meiosis I, Spz: espermatozoides.

Posteriormente en el desarrollo de la gónada de *C. varia* y localizados también en el tejido conjuntivo, se van formando los canales (senos) hemolinfáticos, los haces musculares de músculo liso y las fibras de colágeno.

Los canales hemolinfáticos presentan una estructura semejante a la de los folículos y gonoductos, por lo que puede ser relativamente fácil confundirlos (Fig. 4.16.).

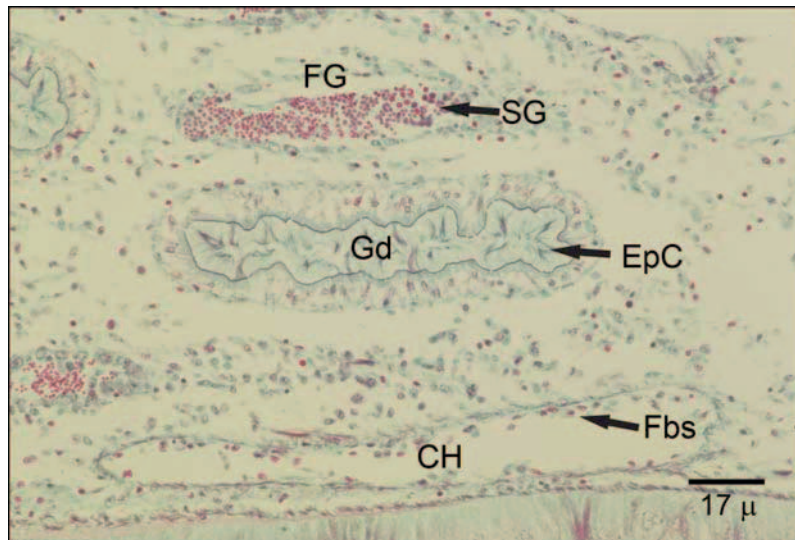


Fig. 4.16. Folículo gonadal, gonoducto y canal hemolinfático. FG: folículo gonadal, Gd: gonoducto, CH: canal hemolinfático, SG: serie gametogénica masculina, EpC: epitelio ciliado, Fbs: fibroblastos.

4.3.2 Gametogénesis

Durante la gametogénesis de *C. varia*, el desarrollo de las líneas germinales tanto masculina como femenina, se inicia comenzando en las paredes foliculares y se dirige hacia el lumen folicular de forma centrípeta al folículo, pero no de forma totalmente lineal, sino de manera sincrónica y por pequeños grupos celulares. También se ha observado desarrollo de series gametogénicas en gonoductos, pero el mayor desarrollo ocurre en los folículos gonadales. Globalmente, hemos observado que la gónada de *C. varia* es un sistema gonoducto-folicular en cuyo interior ocurre el desarrollo de las series gametogénicas correspondientes a las fases sexuales masculina y femenina.

El desarrollo de las series gametogénicas masculina y femenina (SG♂ y SG♀) es rápido y, como se ha comentado, simultáneo a la formación de los gonoductos y de los folículos. Es decir, en un animal joven desarrollando su primera gónada (G1), inmediatamente después de surgir las espermatogonias y las ovogonias, se desarrollan las series gametogénicas (SSG) sin esperar a que finalice el desarrollo gonadal. Esto quiere decir que el desarrollo de las SSG en la gónada primaria de *C. varia* es temprano. Además, las series gametogénicas son independientes, ya que no hay una célula bisexual que origine unas veces espermatogonias y otras ovogonias.

Durante el desarrollo de este trabajo se ha llevado a cabo la caracterización de las células germinales, tanto de la serie gametogénica masculina como de la serie gametogénica femenina. Este proceso consistió en el reconocimiento de los diferentes tipos celulares de ambas series gametogénicas a lo largo de los muestreos realizados durante el desarrollo gonadal y la maduración.

Diferenciación entre espermatogonias y ovogonias

La complejidad en la identificación de las espermatogonias y las ovogonias ha exigido un apartado especial para la diferenciación de estos dos tipos celulares.

La espermatogonia (Spg) es la primera célula perteneciente a la línea germinal masculina que encontramos en un juvenil de *C. varia* que está haciendo su primera gónada, o

sea, en el juvenil no hay una célula anterior a ella que la cause; esta espermatogonia es la célula fundadora de la serie gametogénica masculina y la denominamos espermatogonia 1 (Spg1). Ésta célula se caracteriza por tener una relación núcleo-citoplasmática alta, el nucleoplasma es oscuro y la cromatina es reticular y oscura; se han observado hasta tres nucleolos, pero lo más frecuente es observar dos o un nucleolo, y esto depende del plano de corte del espécimen. Cuando sólo se observa un nucleolo es central y se tiñe de rosa brillante en la tinción tricrómica. La membrana nuclear tiñe de oscuro y manifiesta un reborde grueso y festoneado de cromatina por su cara nucleoplasmática. El citoplasma es escaso y presenta un tono verde-azulado tenue (Fig. 4.17.).

En cuanto a la forma de las espermatogonias de la zamburiña, es frecuente verlas alargadas, ya que se multiplican en hileras. Su tamaño es muy variable, oscilando entre 3-5 μm de diámetro, pero sin llegar a superar en ningún caso el tamaño de las ovogonias, que son más grandes. Además, al aumentar el número de divisiones de proliferación, menor es el tamaño de las Spg y más oscuras son, tendiendo a tomar un color morado con la tinción tricrómica. En este estudio, se consideran a las Spg de mayor talla y menor coloración como espermatogonias primarias (Spg1), y a las Spg más pequeñas y más oscuras como espermatogonias de segunda generación, tercera generación y generaciones sucesivas (Spg2). O sea, como detallamos más adelante, la Spg1 es la espermatogonia fundadora de una serie gametogénica masculina (SG♂); esta espermatogonia se multiplica por mitosis produciendo más Spg1, que conservan su tamaño y características citológicas, pero, seguidamente, estas espermatogonias se multiplican sucesivamente produciendo más espermatogonias y, en este caso, cada espermatogonia hija que surge de cada una de las mitosis tiene un tamaño menor que su progenitora; a todas estas espermatogonias producidas en sucesivas generaciones de mitosis las denominamos espermatogonias secundarias (Spg2) independientemente del nivel de mitosis en el que se han producido.

La posición de las espermatogonias (Spg1 y Spg2) en las paredes de los folículos suele ser como células sueltas (las Spg1) o en hileras de espermatogonias (Spg1+Spg2) con cierta separación entre las hileras. Al desarrollarse las hileras, se alargan perpendicularmente a la pared del folículo, en dirección al centro del mismo, situándose las Spg1 adosadas a la pared folicular por su eje menor y las Spg2 de sucesivas generaciones más centrales en el lumen folicular, tanto más hacia el lumen cuanto más avanzada o reciente sea la generación de Spg2.

La ovogonia (Ovg) es la primera célula de la línea germinal femenina que se observa en el juvenil de *C. varia* que hace su primera gónada, no hay una célula germinal anterior que la cause. Esta célula tiene una relación núcleo-citoplasmática alta, 1 o 2 nucleolos periféricos de gran tamaño, nucleoplasma claro prácticamente blanco, membrana nuclear azul oscuro y un citoplasma escaso de un tono azul más tenue al ser teñido con tricrómico (Fig. 4.17.).

Las ovogonias pueden adquirir varias formas, desde estrechas y alargadas hasta anchas y globosas, dependiendo del grado de compresión celular. Esta compresión es muy variable según el estadio de madurez en el que se encuentre el animal, siendo la variabilidad morfológica más notable en el caso de las Ovg que en el de las Spg. El tamaño es también muy variable en el caso de las Ovg, oscilando entre 4-6 μm de diámetro, por lo que las Ovg en *C. varia* pueden llegar a alcanzar mayor tamaño que las Spg. Su posi-

ción en las paredes de los folículos suele ser en pequeños grupos de 2-3 células adosadas a la pared por su eje mayor.

Otra característica que diferencia a las Ovg de las Spg es que a las primeras se les adhieren fibroblastos procedentes de la MCC, cosa que nunca ocurre con las Spg1 o Spg2; y, posiblemente, serán estos fibroblastos los que devendrán posteriormente en células auxiliares de los ovocitos.

La aparición tanto de las espermatogonias como de las ovogonias tiene lugar en el interior de un sistema gonoductal, que se diverticula y evagina dando lugar a los folículos gonadales. La determinación de estas estirpes celulares debe realizarse durante la embriogénesis del animal, y sus vidas en el molusco, a partir de que el juvenil forma su primera gónada, parece que discurren independientes entre sí.

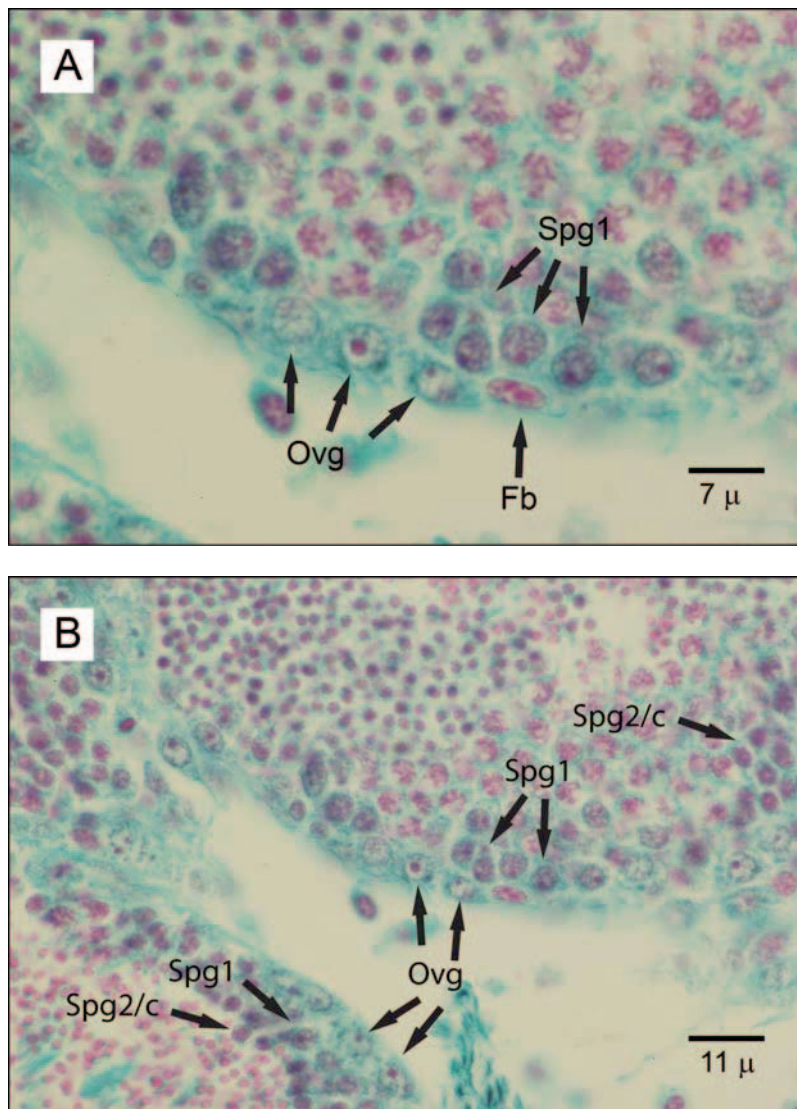


Fig. 4.17. A y B. Morfología y ubicación folicular de las espermatogonias y de las ovogonias. Nótese sus diferencias en la tinción del nucleoplasma, tamaño, forma y posición dentro de los folículos. Ovg: ovogonia, Spg1: espermatogonia primaria, Fb: fibroblasto, Spg2/c: clon de espermatogonias secundarias producidas en las series gametogénicas que inician las Spg1 y se producen a partir de ellas.

4.3.2.1 Espermatogénesis

Durante el proceso de espermatogénesis, en primer lugar las espermatogonias primarias (Spg1) se dividen mitóticamente de manera individual, dando como resultado la multiplicación de las Spg1. Seguidamente, se lleva a cabo una serie secuencial de mitosis de proliferación con reducción de tamaño, que ocurre por grupos de Spg1 formando hileras o clones de espermatogonias de las siguientes generaciones. La proliferación de espermatogonias con reducción de tamaño (PRT) es un proceso descrito en *Ostrea edulis* (Silva, 2012) que también lo realiza *Chlamys varia*. El proceso lo inicia una espermatogonia primaria (Spg1), comprometida a hacerlo, y consiste en una secuencia de mitosis donde las células hijas de cada división, aún siendo espermatogonias, tienen menor tamaño que su progenitora, con lo cual se reduce progresivamente el tamaño de las células hijas. Así, después de un número de mitosis (6-9 mitosis) se produce un clon de espermatogonias pequeñas. En cada mitosis, y desde la primera que realiza la Spg1 comprometida, las células hijas no se independizan (la citoquinesis es incompleta) sino que quedan unidas entre sí por puentes citoplasmáticos; de este modo, al final de una PRT se produce un conjunto de espermatogonias pequeñas, todas unidas entre sí, que denominamos clon de espermatogonias. Cada espermatogonia que surge de un nivel de mitosis en una PRT podríamos denominarla secundaria, terciaria,..., y así sucesivamente, pero, para aligerar la nomenclatura, a todas las espermatogonias que se forman en una PRT, independientemente del nivel de mitosis donde surgen, las denominamos espermatogonias secundarias (Spg2), y al grupo final de espermatogonias pequeñas que produce una PRT lo denominamos clon de espermatogonias secundarias (Spg2/c) (Fig. 4.18.).

Una PRT es iniciada por una Spg1 comprometida y, realmente, es un proceso de amplificación de espermatogonias, pero es un proceso de amplificación particular; y lo es porque parece que es un proceso que “conserva memoria” del número de mitosis que se realizan, de tal modo que después de un determinado número de mitosis, la siguiente división que harán las espermatogonias será una meiosis; o sea, finalizada una PRT, las espermatogonias producidas entran en meiosis, con lo cual la PRT es la antesala del proceso de meiosis. A las últimas espermatogonias producidas en una PRT que, en lugar de hacer una mitosis, entran en meiosis se las denomina espermatoцитos primarios (Spc1) cuando realmente han iniciado el proceso meiótico.

La PRT es el conjunto de divisiones mitóticas de proliferación, con reducción del tamaño celular, que sufren las Spg antes de entrar en meiosis. Cada espermatogonia primaria, cuando se compromete, produce una PRT. En el interior de los folículos, las PRTs producidas por las espermatogonias primarias se organizan en hileras columnares de Spg2 de diferentes tamaños que se orientan desde la pared folicular hacia el lumen del folículo (Fig. 4.19.). Parece que cada Spg1 tiene que hacer necesariamente una PRT para poder producir un clon o sincitio estructural de espermatoцитos primarios (Spc1/c) y comenzar la meiosis, ya que no se ven meiosis de Spg1 ni de Spg2 de primeros niveles de división de las PRT (Fig. 4.18 y Fig. 4.20.).



Fig. 4.18. Comienzo de la espermatogénesis. Mitosis de espermatogonias primarias seguidas de mitosis de proliferación con reducción de tamaño (PRT) para obtener clones de espermatogonias de siguientes generaciones. Spg1: espermatogonias primarias; Spg1/M: mitosis (metafase) de Spg1; Spg2/c: clon de espermatogonias secundarias.

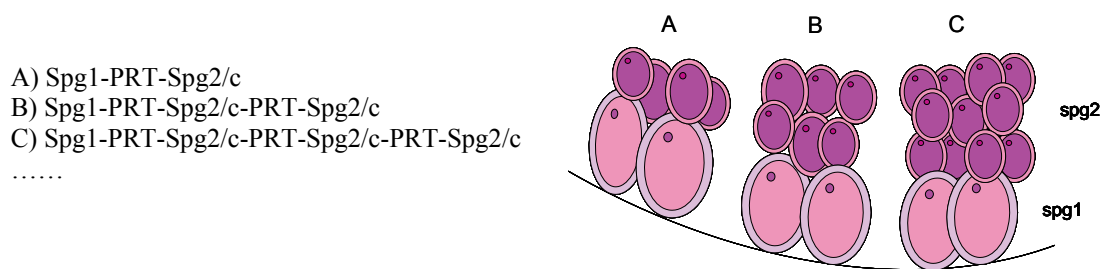


Fig. 4.19. Esquema del modelo de formación de los clones de Spg2 a partir de las Spg1 por medio de sucesivas mitosis de proliferación con reducción de tamaño.





Fig. 4.20. Primera división meiótica (MeI) en la espermatogénesis. Se muestran varios estadios de la profase de la MeI, así como la metafase de la MeI. A) Espermatocitos primarios en leptoteno; B) Espermatocitos primarios en zigoteno-paquiteno, diploteno, diacinesis y metafase. Spc1/Lep: espermatocitos primarios en leptoteno; Spc1/Zig-Paq: espermatocitos primarios en zigoteno-paquiteno; Spc1/Dip: espermatocitos primarios en diploteno; Spc1/Dia: espermatocitos primarios en diacinesis; Spc1/Met: espermatocitos primarios en metafase.

Tras la primera división meiótica aparecen los espermatocitos secundarios (Spc2), que rápidamente entran en la segunda división meiótica, por lo que son células muy difíciles de observar en los cortes histológicos de la gónada de *C. varia* (Fig. 4.21.). Después de la MeII surgen las espermátidas tempranas (Spdt), que experimentan un proceso de diferenciación, denominado espermiogénesis, que acaba originando los espermatozoides. Este proceso consiste en una serie secuencial de transformaciones morfológicas graduales que producen primeramente las espermátidas tardías (Spdtd) y continúan para elaborar finalmente los gametos masculinos o espermatozoides (Spz).

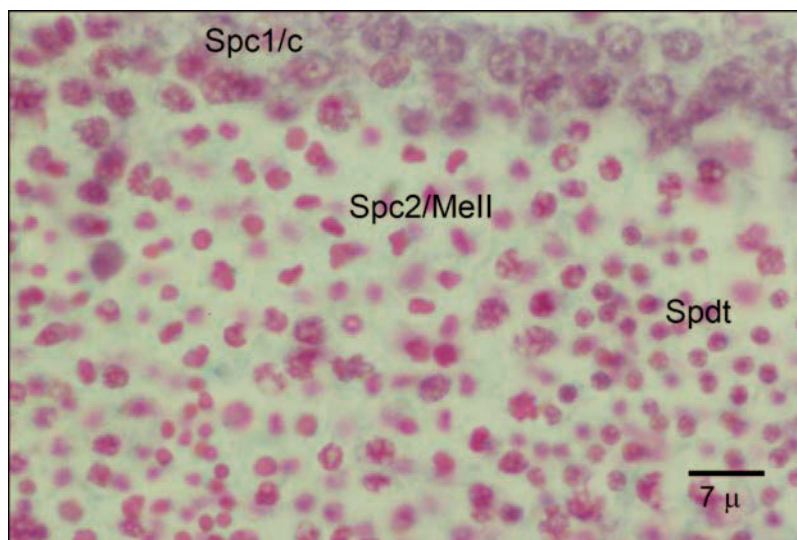


Fig. 4.21. Segunda división meiótica (MeII) en la espermatogénesis. Spc2/MeII: espermatocitos secundarios en meiosis II; Spc1/c: clon de espermatocitos primarios; Spdt: espermátidas tempranas.

Una serie gametogénica masculina (SG♂) la inicia una espermatogonia primaria y finaliza con la producción de espermatozoides, y está constituida por todas las estirpes celu-

lares que surgen en la cadena de producción de espermatozoides a partir de la espermatogonia primaria. En un folículo gonadal hay tantas series gametogénicas como espermatogonias primarias que las inician.

Como expresión de una serie gametogénica, se propone el siguiente modelo de espermatogénesis para *Chlamys varia*, incluyendo las estirpes celulares, su génesis secuencial y los procesos que las originan:

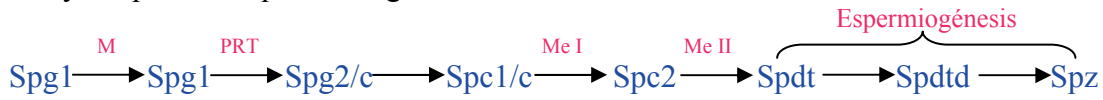


Fig. 4.22. Esquema del modelo de espermatogénesis que se propone para *Chlamys varia*. Spg1: espermatogonia primaria; Spg2/c: clon de espermatogonias secundarias; Spc1/c: clon de espermatocitos primarios; Spc2: espermatocitos secundarios; Spdt: espermátidas tempranas; Spdtd: espermátidas tardías; Spz: espermatozoides; M: mitosis; PRT: mitosis de proliferación de espermatogonias con reducción de tamaño; MeI: meiosis I; MeII: meiosis II.

Caracterización de las células germinales de la serie gametogénica masculina

Las estirpes celulares de la serie gametogénica masculina, por orden de formación, son las siguientes:

- Espermatogonia primaria (Spg1)
- Espermatogonia secundaria (Spg2)
- Espermatocito primario (Spc1)
- Espermatocito secundario (Spc2)
- Espermátida temprana (Spdt)
- Espermátida tardía (Spdtd)
- Espermatozoide (Spz)

Ilustración de la célula	Nombre célula	Características morfológicas
	Spg1	Gran tamaño, 1-3 nucleolos, gran nucleoplasma oscuro, cromatina reticular, citoplasma escaso y tenue, adosada o muy próxima a la pared folicular.
	Spg2	Características semejantes a las de la Spg1, pero menor tamaño, más oscura, situada perpendicular a la pared folicular hacia el lumen folicular.
	Spc1	Pequeña célula oscura, membrana nuclear oscura y citoplasma muy pequeño, con nucleolo, se sitúa más próxima al lumen folicular. Ha iniciado la meiosis I.
	Spc2	Pequeña célula esférica, sin nucleolo, núcleo rosa intenso y muy escaso citoplasma. La cromatina nuclear da una morfología al núcleo con aspectos de “rueda de carro” y “anillo”.
	Spdt	Morfología semejante a los Spc2, pero tienen menor tamaño.



	Spdtd	Forma abelotada, con región mitocondrial azul intenso; posible percepción pequeño flagelo y acrosoma nacientes.
	Spz	Cabeza abelotada rosa. Acrosoma, región mitocondrial y largo flagelo teñidos de azul intenso.

Tabla 4.1. Ilustración y principales características de las estirpes celulares de la serie gametogénica masculina.

Espermatogonias primarias (Spg1)

Como ya se ha comentado anteriormente, las Spg1 son las primeras espermatogonias que surgen en la gónada de *C. varia*, las de mayor tamaño y colores más claros (Fig. 4.23.). Durante este estudio se midieron los siguientes parámetros en las Spg1: un diámetro celular medio de $4,17 \pm 0,18 \mu\text{m}$, un diámetro del núcleo de $3,23 \pm 0,15 \mu\text{m}$, una relación núcleo-citoplasmática (N/C) de $0,78 \pm 0,03 \mu\text{m}$ y un diámetro de los nucleolos de $0,97 \pm 0,02 \mu\text{m}$.

Espermatogonias secundarias (Spg2)

Las espermatogonias secundarias (Spg2) son las espermatogonias de segunda, tercera,... n-ésima generación que se producen en la PRT de una Spg1. Estas células comparten las mismas características que la Spg1 pero presentan, progresivamente, menor tamaño (diámetro medio celular: $3,67 \pm 0,10 \mu\text{m}$; diámetro nuclear: $2,86 \pm 0,05 \mu\text{m}$; relación N/C: $0,79 \pm 0,03$; diámetro del nucleolo $0,74 \pm 0,06 \mu\text{m}$) y, además, son más oscuras. Dentro de los folículos, las Spg2 se sitúan tras las Spg1, perpendiculares a la pared folicular y en dirección al centro del folículo (Fig. 4.23.).

Espermatocitos primarios (Spc1)

Son las células germinales masculinas que hacen la meiosis. Son pequeñas células oscuras con un diámetro celular de $2,58 \pm 0,24 \mu\text{m}$; un diámetro nuclear de $2,07 \pm 0,24 \mu\text{m}$; una relación N/C de $0,80 \pm 0,04$, y que mantienen el nucleolo durante la profase (diámetro del nucleolo: $0,39 \pm 0,05 \mu\text{m}$). Presentan la cromatina muy condensada en el nucleoplasma, membrana nuclear oscura y citoplasma muy escaso. Realmente, los Spc1 son las espermatogonias secundarias que se forman en la última división de una PRT y quedan comprometidas a hacer meiosis en lugar de mitosis; cuando estas células entran en meiosis es cuando se denominan espermatocitos primarios. En los folículos, los Spc1 se sitúan hacia el centro del lumen folicular, tras la banda de Spg2 (Fig. 4.23.).



Fig. 4.23. Espermatogonias y espermatocitos primarios. Spg1: espermatogonia primaria; Spg2/c: clon de espermatogonias secundarias; Spc1/c, MeI: clon de espermatocitos primarios en meiosis I.

Espermatocitos secundarios (Spc2)

Son las células que surgen de la meiosis I y van a hacer la meiosis II. Su forma es esférica y en la zamburiña presentan un diámetro medio de $1,79 \pm 0,07 \mu\text{m}$. No presentan nucleolo, su núcleo se tiñe de color rosa intenso con tricrómico y su citoplasma es escaso. Son células difíciles de observar como tales, posiblemente porque entran rápidamente en la MeII una vez que se forman. Cuando se observan antes de entrar en la MeII presentan una cromatina nuclear con morfología en “rueda de carro” que los distingue. Hacen una metafase pequeña (menor que la de la MeI) donde los cromosomas, teñidos de rosa intenso, se alinean en el plano ecuatorial del huso acromático (Fig. 4.21.).

Espermátidas tempranas (Spdt)

Las espermátidas tempranas son las células que surgen de la MeII y que a continuación hacen el proceso de espermiogénesis para originar los espermatozoides. No tienen acrosoma ni flagelo. Su tamaño celular ($1,65 \pm 0,07 \mu\text{m}$ de diámetro) es considerablemente menor que el de los Spc2, pero su morfología es muy semejante, parecida a pequeñas “rueditas de carro” o “moneditas” (Fig. 4.24.). Prácticamente toda la célula es núcleo que tiñe de rosa intenso. El citoplasma, que irá perdiendo, tiñe de azul verdoso.

Espermátidas tardías (Spdtd)

Son células en proceso de diferenciación (espermiogénesis), que en la zamburiña se van alargando hasta adquirir forma abelotada. En estas células ya se está formando el acrosoma y el flagelo. La región de la célula donde se reúnen las mitocondrias y se inicia y arraiga el flagelo, tiñe de azul intenso. Cuando el plano de corte lo favorece, se percibe el inicio del acrosoma y el del flagelo (Fig 4.24.). Su talla media es de $1,19 \pm 0,04 \mu\text{m}$ de diámetro.

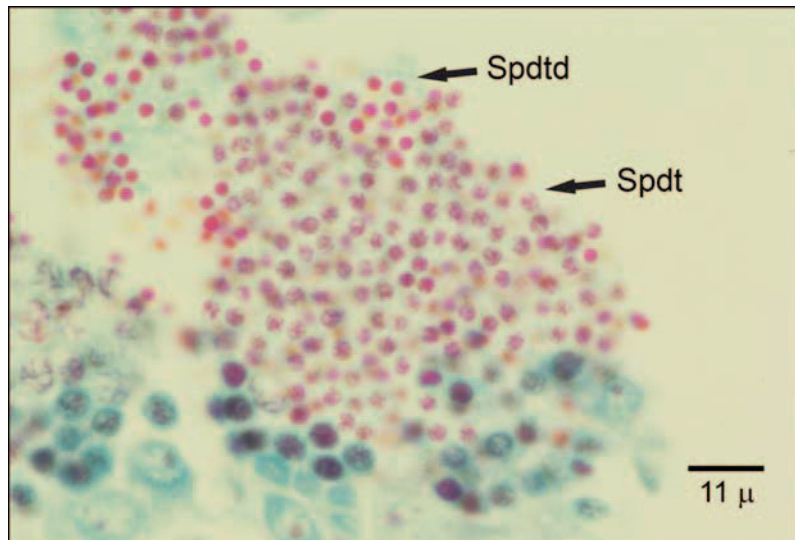


Fig. 4.24. Espermatidas tempranas y tardías. Spdt: espermatidas tempranas; Spdtd: espermatidas tardías.

Espermatozoides (Spz)

Los espermatozoides son los gametos. Surgen del proceso de espermiogénesis que experimentan las espermatidas. Están formados por una cabeza que se tiñe de rosa con el acrosoma en un extremo; en el extremo opuesto se sitúan las mitocondrias y un largo flagelo con una longitud media de $70 \pm 4,05 \mu\text{m}$, todo ello teñido de un azul intenso. La cabeza de los Spz en *C. varia* presenta forma de bellota, es decir, es corta, chata y ancha (longitud media de la cabeza de $1,26 \pm 0,02 \mu\text{m}$ y anchura media de $1,01 \pm 0,01 \mu\text{m}$). Se localizan en la parte más central del lumen folicular, alineándose durante el estadio de puesta (B) y formando columnas de Spz situados con la cabeza lateral y los flagelos centrales, dando un aspecto de gruesas columnas azules de flagelos (Fig. 4.25.). Posteriormente, estas líneas de Spz se rompen y progresa la liberación de los gametos masculinos.

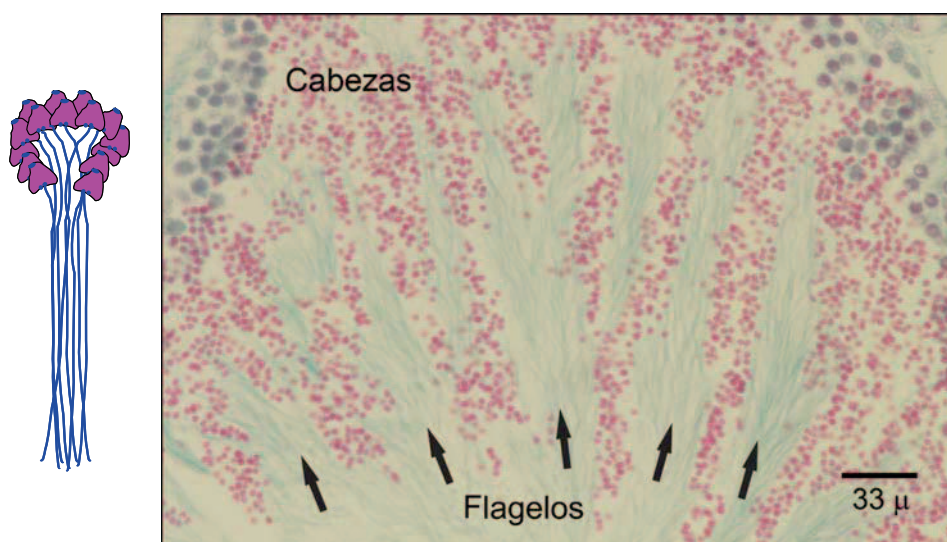


Fig. 4.25. Columnas de espermatozoides alineados durante el estadio de puesta de la zamburiña.

Se ha observado que durante la espermatogénesis de *C. varia*, las sucesivas divisiones de maduración conducen a un aumento en el número de células con disminución de tamaño, reduciendo el diámetro medio desde las $4,17 \pm 0,18 \mu\text{m}$ de las Spg1 hasta las

$1,01 \pm 0,01 \mu\text{m}$ de los Spz maduros. Además, a medida que se dividen las células y surgen las células hijas, éstas describen un desplazamiento hacia el centro del folículo (Fig. 4.26.).

También se ha determinado que las células germinales de la serie gametogénica masculina en *C. varia* no son células separadas, sino que a partir de las primeras Spg2 que aparecen tienen puentes citoplasmáticos entre ellas, formando clones o sincitios funcionales. Estos clones son grupos más o menos grandes de células conectadas que se dividen y se diferencian de manera sincrónica. Por este motivo, en una misma muestra gonadal pueden observarse cohortes sucesivas de series gametogénicas masculinas en diferente estadio de desarrollo.

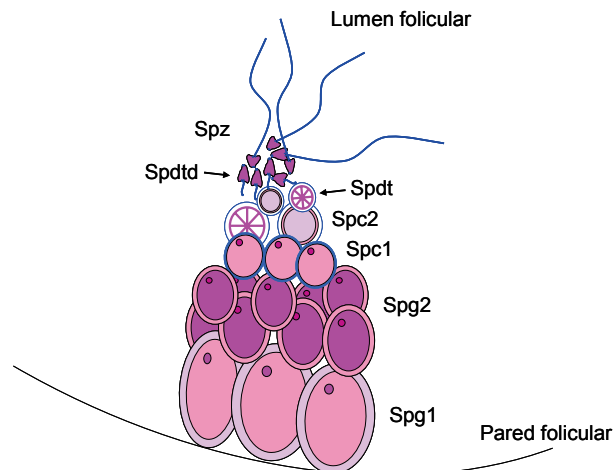


Fig. 4.26. Representación gráfica del desarrollo de las series gametogénicas en un folículo gonadal. Se indican las estirpes celulares y su posición en el folículo desde la pared hacia el lumen folicular. Spg1: espermatogonia primaria; Spg2: espermatogonias secundarias; Spc1: espermatocitos primarios; Spc2: espermatocitos secundarios; Spdt: espermátidas tempranas; Spdtd: espermátidas tardías; Spz: espermatozoides.

4.3.2.2 Ovogénesis

La ovogénesis es el proceso de producción de huevos. Los óvulos o huevos son formados por las *series gametogénicas femeninas* (SG♀). En *Chlamys varia*, la célula fundadora de cada una de las series gametogénicas femeninas es la ovogonia (Ovg), y lo es tanto en el juvenil que hace su primera gónada, como en las siguientes gónadas que producirá el animal en los sucesivos ciclos reproductivos que desarrollará en su ciclo de vida. Tanto en los juveniles como en los adultos, no se ha observado una célula germinal anterior a la ovogonia y que la cause; si tal célula existe debe hallarse durante la embriogénesis del molusco.

Las ovogonias inician la ovogénesis y hacen dos procesos secuenciales de multiplicación proliferativa que denominamos *proliferación independiente* y *proliferación clonal* (PC). En la *proliferación independiente* las ovogonias hacen mitosis independientes entre sí, las células hijas no reducen su tamaño y no se adosan entre sí. La *proliferación clonal* (PC) brota a partir de una ovogonia comprometida a hacerla, que inicia y desarrolla un proceso de divisiones mitóticas donde las células hijas, que a su vez hacen mitosis, no reducen su tamaño pero quedan adosadas entre sí; como resultado de este proceso surge un grupo, colonia o nido de ovogonias, todas iguales a la ovogonia original que inició el proceso, que denominamos *clon de ovogonias* (Ovg/c); la forma del clon

puede ser en *grupo* o *domo*, o en *línea* o *hilera*. Si es en línea, todas las ovogonias del clon están adosadas a la pared folicular; si es en grupo, las ovogonias de su base se adosan a la pared folicular pero otras no lo están.

Los niveles de divisiones mitóticas en el seno de una proliferación clonal son pocos (4-5 mitosis), y realizadas estas mitosis todas las ovogonias del clon entran en meiosis. No se observaron Ovg sueltas haciendo meiosis, lo que sugiere que las Ovg necesitan hacer proliferación clonal y formar clones celulares antes de realizar la meiosis. Por el aspecto morfológico que presentan las ovogonias en las proliferaciones clonales y por el acompañamiento de los procesos celulares que en ellas ocurre, parece que una proliferación clonal se comporta como un *sincitio funcional*; y esto se observa bien porque las ovogonias de una PC entran en meiosis simultáneamente y la desarrollan de forma sincronizada (Fig. 4.27.).

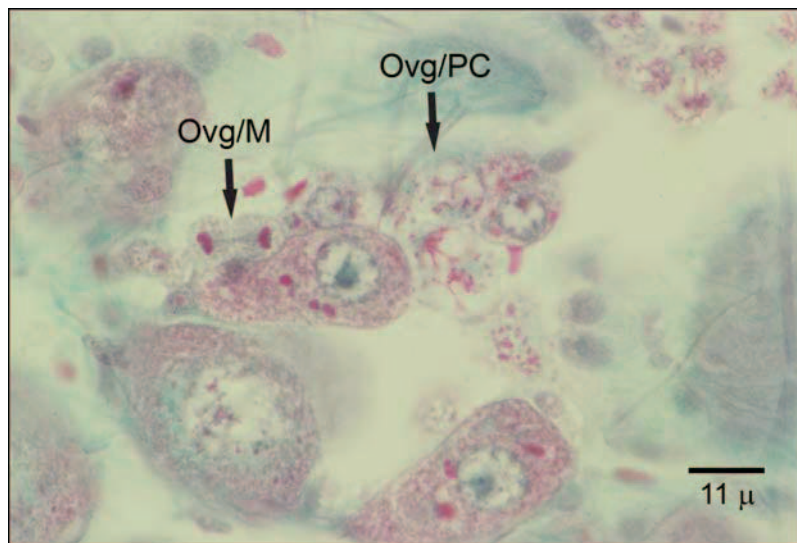


Fig. 4.27. Comienzo de la ovogénesis. Mitosis de ovogonia y proliferación clonal (PC) de ovogonias.
Ovg/M: mitosis (anafase) de ovogonia; Ovg/PC: proliferación clonal de ovogonias.

La orientación de las metafases de las mitosis de las Ovg en una PC será la que definirá la futura disposición de las ovogonias en la pared folicular, es decir, si las mitosis son paralelas a la pared, darán lugar a una PC en línea, mientras que si son perpendiculares a ella o tienen cierto ángulo, la PC será en grupo (Fig. 4.28. y Fig. 4.29.). Además, en la formación de nuevos folículos, las PC más frecuentes son en grupo, y cuando se producen en las paredes de un folículo anterior, pueden ser tanto en grupo como en línea, posiblemente debido al tamaño folicular.

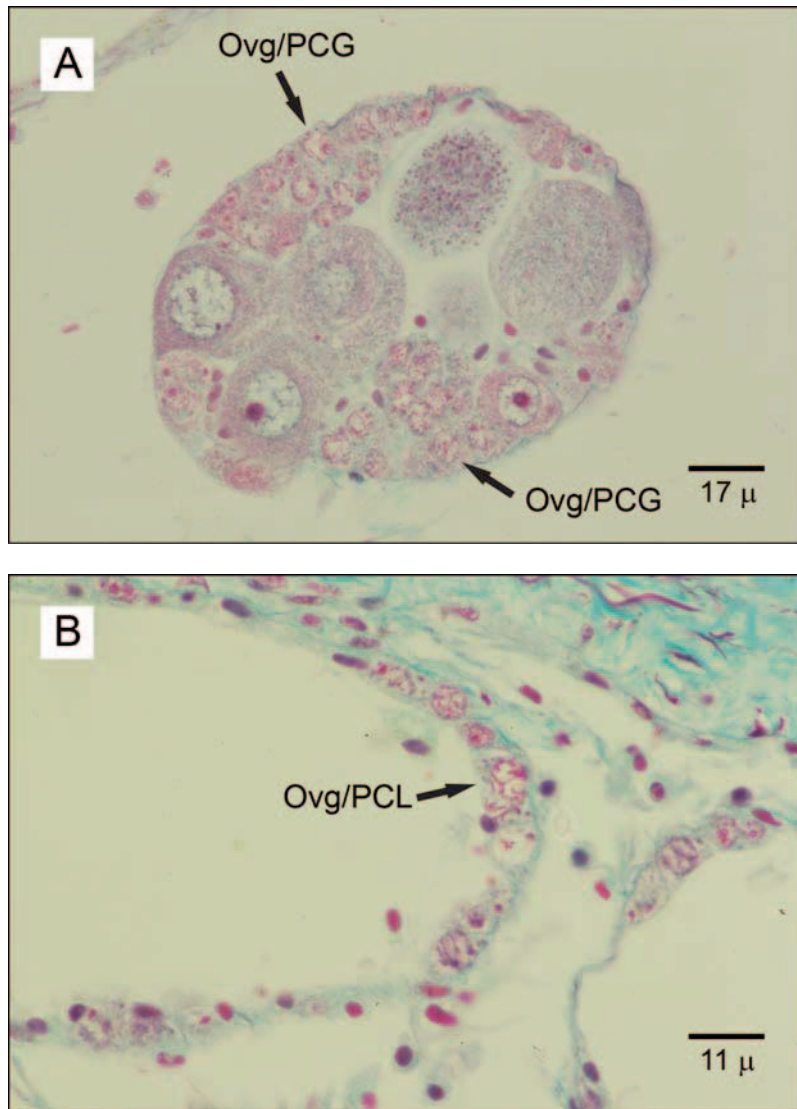


Fig. 4.28. Proliferación clonal de ovogonias. A) Proliferación clonal en grupo; B) Proliferación clonal en línea. Ovg/PCG: proliferación clonal en grupo; Ovg/PCL: proliferación clonal en línea.

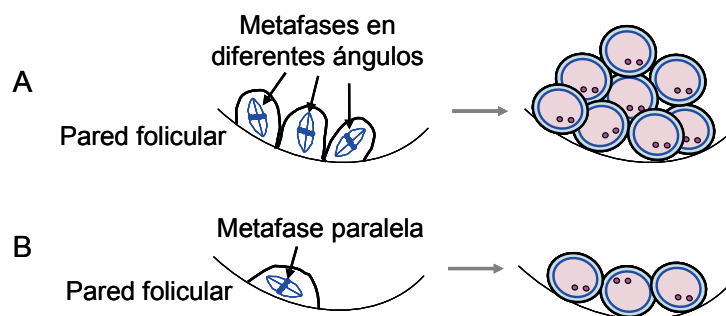


Fig. 4.29. Esquema de la proliferación clonal de ovogonias en grupo y en línea. Se indica cómo la orientación de las metafases de las ovogonias en relación a la pared folicular origina la formación de una PC en grupo o en línea. A) PC en grupo; B) PC en línea.

Conviene hacer aquí una precisión terminológica: cuando una ovogonia comprometida entra en meiosis se llama *ovocito primario*, denominación que hace referencia al estado meiótico en el que se encuentra la célula; por tanto, realmente, las células que están haciendo meiosis en una proliferación clonal son **ovocitos primarios (Ov1)**. Como una

proliferación clonal (PC) la hace una ovogonia originando un clon de ovogonias, y como seguidamente todas las ovogonias del clon entran en meiosis, al final lo que se tiene es **un clon de ovocitos primarios**.

Los ovocitos primarios (Ov1) de una PC que están haciendo la meiosis I (MeI) frenan este proceso en la **profase, estadio de diacinesis** (Fig. 4.30.); ésta es la *primera frenada meiótica del ovocito*. Los Ov1 así frenados se desgajan de la proliferación clonal y adquieren vida independiente; en este momento, se observa que los ovocitos -que aún no detentan envoltura vitelina- tienen unas células adheridas a su superficie; estas son las denominadas **células auxiliares**. Aún no se conoce la función de estas células auxiliares, pero en cuanto a su origen, lo que se observa es que proceden del entorno de la PC donde se han formado los Ov1; son células existentes en la MCC que rodea a la proliferación clonal.

Los Ov1, ya independientes, que se desprenden de las proliferaciones clonales, inician y desarrollan el proceso de **vitelogénesis** hasta finalizarla. A este ovocito, cuando aún no ha iniciado la vitelogénesis se le llama **ovocito previtelogénico** (Ovp), es un ovocito vitelogénicamente inmaduro y se caracteriza por presentar un núcleo prominente, llamado vesícula germinal (GV, Germinal Vesicle), con la mayoría de la cromatina condensada (eucromatina) y un nucleolo destacado, el citoplasma es muy escaso.

Los Ovp, frenados en diacinesis de la MeI, hacen todo el proceso de **vitelogénesis** hasta finalizarla. Cuando el ovocito concluye la vitelogénesis es un ovocito vitelogénicamente maduro y se llama **ovocito postvitelogénico** (Ovptv). Estos ovocitos postvitelogénicos continúan meióticamente frenados en la diacinesis de la MeI.

Finalizada la vitelogénesis, los ovocitos postvitelogénicos reanudan la meiosis, pero no la concluyen sino que vuelven a frenar este proceso en un estadio más avanzado del mismo, y ésta es la *segunda frenada meiótica del ovocito*. El estadio de la meiosis donde el ovocito hace la segunda frenada depende de la especie del animal (Masui, 1985; Greenstein, 2005).

Hemos observado que los ovocitos postvitelogénicos de *Chlamys varia* hacen la segunda frenada meiótica en el estadio de GVBD (Germinal Vesicle Breakdown). Este estadio ocurre todavía en la MeI y es una transición desde la diacinesis a la metafase pero sin llegar a ella. Consiste en que la membrana del núcleo (vesícula germinal) del ovocito se rompe parcialmente pero no llega a desaparecer (Fig. 30 y Fig. 31.). Esta rotura comienza por una ondulación de la membrana, continúa por una rotura parcial en diferentes lugares de la misma y acaba en una vesiculación intensa de la membrana nuclear. Llegado a este punto, el proceso de rotura no prosigue, estas vesiculaciones de la membrana nuclear no desaparecen y el proceso meiótico queda detenido aquí y no progresa hacia la metafase.

Por tanto, los ovocitos postvitelogénicos de *Chlamys varia* hacen la segunda frenada meiótica en GVBD, y así devienen en **óvulos** o **huevos**, que son viables meióticamente para la fecundación y, también, son viables vitelogénicamente para sostener el desarrollo de los primeros estadios de la embriogénesis, después de la fecundación, hasta que la larva pueda nutrirse por sí misma. En definitiva, el huevo de *Chlamys varia* es un ovocito frenado en la MeI, estadio de GVBD; y así son emitidos los huevos en las puestas.

Un ovocito maduro (huevo) es aquél que es meióticamente viable para la fecundación, y adquiere esta condición cuando alcanza la segunda frenada meiótica. Un ovocito no está maduro cuando finaliza la vitelogénesis, sino que lo está cuando ha alcanzado la segunda frenada meiótica. Como el ovocito realiza la vitelogénesis entre la primera frenada meiótica y la segunda, sucede que cuando el ovocito es meióticamente maduro también lo es vitelogénicamente.

La maduración ovocitaria es un concepto que tiene que ver con la meiosis del ovocito y no con el proceso de vitelogénesis. Es el conjunto de procesos bioquímicos y celulares que realiza el ovocito para pasar desde la primera frenada meiótica a la segunda frenada meiótica una vez que ha realizado la vitelogénesis. En este sentido, en *Chlamys varia* no se ha observado que los ovocitos realicen la maduración meiótica sin haber finalizado antes la vitelogénesis; por tanto, los ovocitos que hacen la maduración meiótica son siempre postvitelogénicos.

En *C. varia* los ovocitos son emitidos en el estadio GVBD, ya que no se observan fases meióticas posteriores en ovocitos que se encuentren en el interior de la gónada de esta especie.

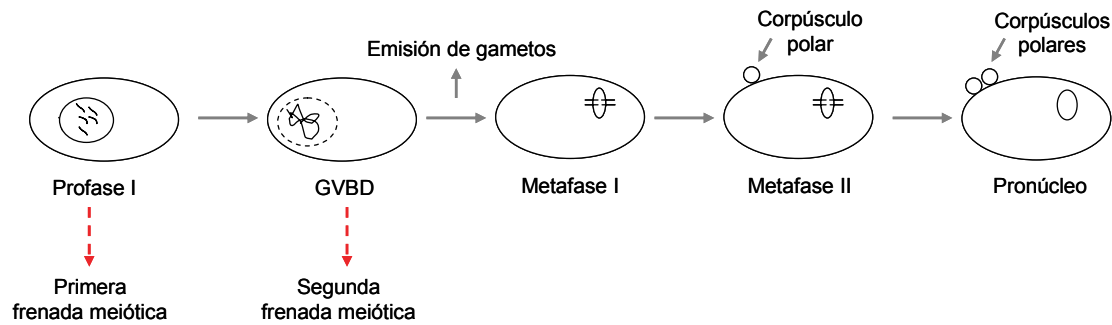
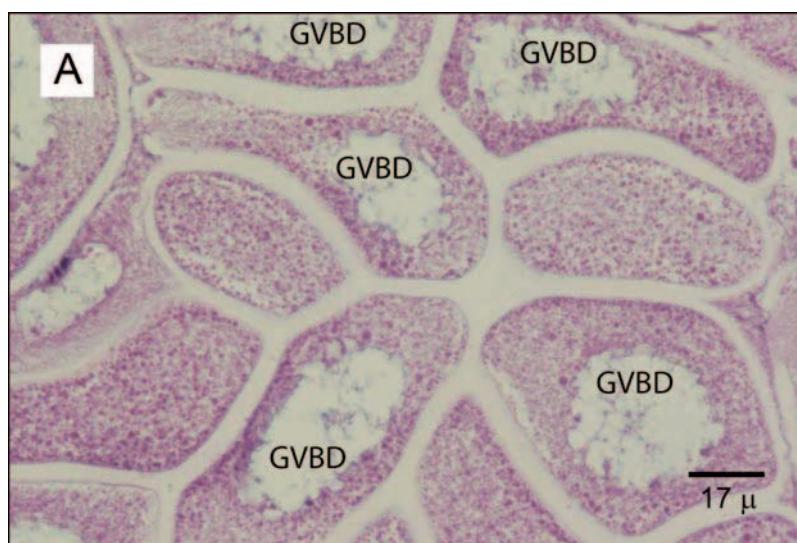


Fig. 4.30. Representación gráfica de la maduración meiótica ovocitaria en *Chlamys varia*. Los ovocitos meióticamente maduros quedan frenados en GVBD, no pasan a la metafase de la Meiosis I. (Modificado de Greenstein, 2005).



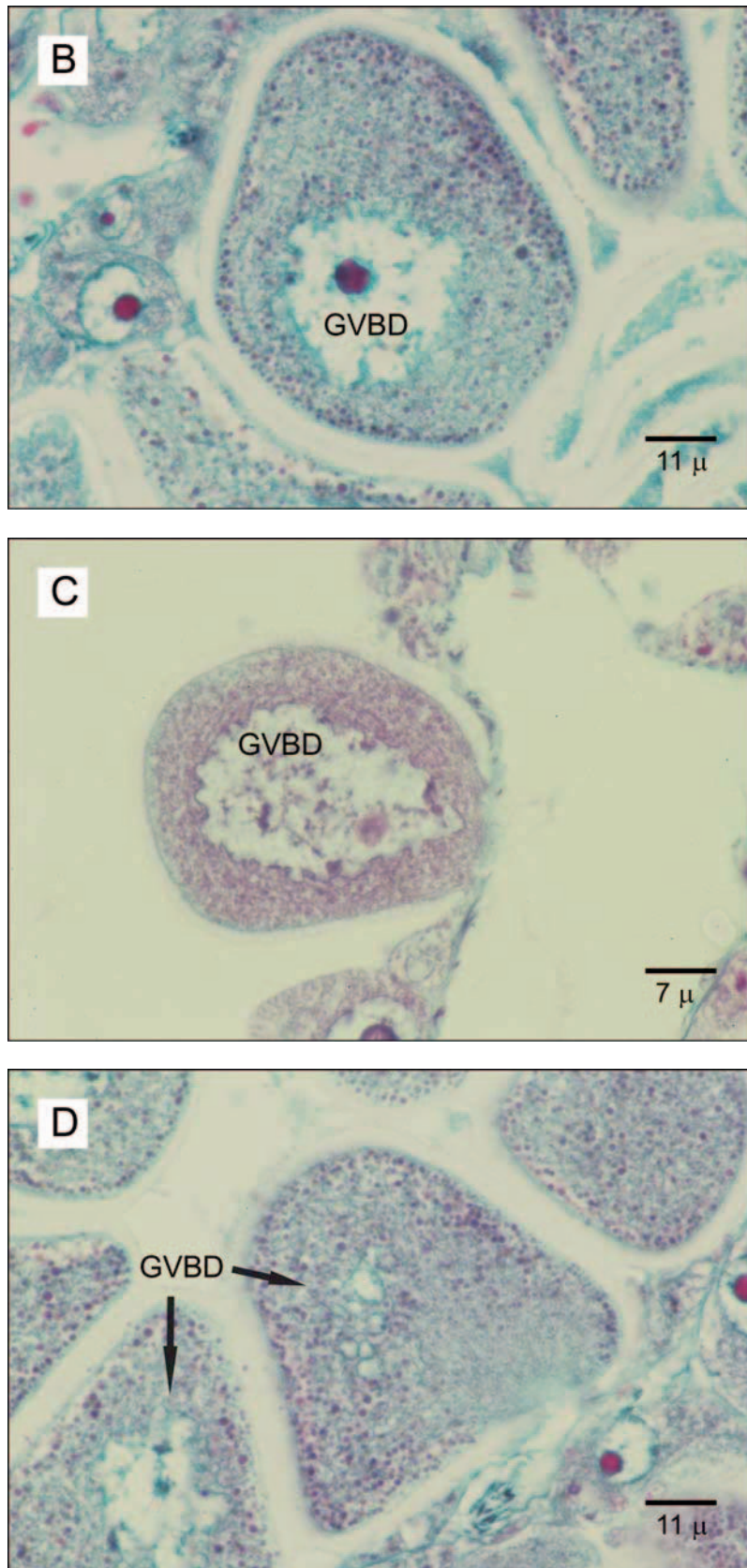


Fig. 4.31. Desaparición progresiva de la vesícula germinal, estadio “GVBD”, en *C. varia*. A) Visión general de un estadio “GVBD”; B, C, D) Evolución del desvanecimiento de la vesícula germinal.

Para culminar el proceso de ovogénesis y lograr la maduración ovocitaria, además de adquirir la maduración meiótica (Fig. 4.30.), también es necesario que se den los siguientes procesos:

- La maduración gametogénica, que es una maduración morfológica consistente en el aumento de la talla de los ovocitos, que culmina cuando invaden el lumen folicular.
- La maduración vitelogénica, que se refiere a la cantidad de vitelo que ha sido incorporada en el ovocito y que ocurre durante la primera frenada meiótica, cuando las condiciones ambientales son favorables.

La activación ovocitaria, que se produce tras la segunda frenada meiótica y tras la puesta, ocurre cuando el espermatozoide fertiliza al ovocito. En *C. varia*, después de la vitelogénesis, el paso de la primera a la segunda frenada es muy rápido, el animal no hace un reservorio de ovocitos, sino que forma ovocitos nuevos en cada ciclo reproductivo.

A continuación se ilustra con un esquema el proceso de ovogénesis que se propone para *Chlamys varia*. En este proceso, cada ovogonia que hace la ovogénesis sólo produce un óvulo.



Fig. 4.32. Esquema de la ovogénesis en *Chlamys varia*. Ovg: ovogonia; Ovg/c: clon de ovogonias; Ovp: ovocito previtelogénico; Ovptv: ovocito postvitelogénico; M: mitosis; PC: proliferación clonal; MeI: meiosis I; GVBD: germinal vesicle breakdown.

Caracterización de las células germinales de la serie gametogénica femenina

Las células germinales de la serie gametogénica femenina por orden de formación son las siguientes (Tabla 4.2, Fig. 4.33. y Fig. 4.34.):

- Ovogonia (Ovg)
- Ovocito previtelogénico temprano (Ovpt)
- Ovocito previtelogénico (Ovp)
- Ovocito vitelogénico joven (OvVj)
- Ovocito vitelogénico tardío (OvVtd)
- Ovocito postvitelogénico (Ovptv)
- Ovocito fértil u óvulo (Ovf)
- Ovocito atrésico en degeneración o reabsorción (At)

Ilustración de la célula	Nombre célula	Características morfológicas
	Ovg	Gran tamaño, 1 o 2 nucleolos, gran nucleoplasma claro, membrana nuclear azul oscuro, citoplasma escaso azul tenue, en grupos de 2-3 células adosadas a la pared por su eje mayor.
	Ovpt	Nucleolo/s de gran tamaño y color rosa brillante, puede presentar cuerpos de Balbiani, puede llevar adosadas hacia el lumen células auxiliares.
	Ovp	Más citoplasma, cuerpos de Balbiani, células auxiliares asociadas.

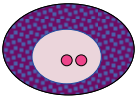
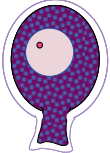
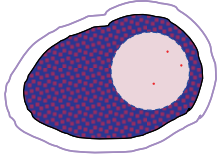

	OvVj	Inicio de la vitelogénesis y formación de la envoltura vitelina (EV), sin pedúnculo o leve, adosados a la pared por su eje mayor, puede presentar cuerpos de Balbiani.
	OvVtd	Finaliza la vitelogénesis, pedunculados, parte distal aumenta y redondea, con núcleo, nucleolo decrece, puede presentar cuerpos de Balbiani, envoltura vitelina (EV) ancha y transparente.
	Ovptv	Ovocito libre, numerosos gránulos de vitelo, núcleo con cromosomas diacinéuticos rojos, sin nucleolo o muy pequeño, con GVBD, forma poligonal o esférica, EV.
	At	Núcleo oscuro, desaparición progresiva de membranas, citoplasma claro, necrosis en periferia, gránulos de desintegración. Permanece la envoltura vitelina (EV).

Tabla 4.2. Ilustración y principales características de las células germinales femeninas de *Chlamys varia*.

Ovogonia (Ovg)

Como ya hemos comentado, la Ovg es la primera célula de la línea germinal femenina en juveniles y en adultos de *C. varia*. Es la célula de mayor tamaño de ambas series gametogénicas (diámetro medio $4,96 \pm 0,17 \mu\text{m}$), presenta 1 ó 2 nucleolos de $0,96 \pm 0,04 \mu\text{m}$ de diámetro, un gran nucleoplasma claro de $3,94 \pm 0,10 \mu\text{m}$, membrana nuclear azul oscuro y citoplasma de tamaño moderado de un tono azul tenue. Presenta una relación N/C alta, de $0,80 \pm 0,03 \mu\text{m}$.

Ovocito previtelogénico temprano (Ovpt)

Es el ovocito primario que tras haber comenzado la MeI está frenado en el estadio de diacinesis de la profase de la MeI. Se diferencia principalmente de las Ovg porque la célula y el núcleo tienen mayor tamaño y por el color rosa brillante de su nucleolo. Con menor frecuencia puede presentar doble nucleolo. Este aumento de tamaño del nucleolo se debe a la producción de ribosomas necesarios para la síntesis de proteínas para el vitelo. Puede presentar cuerpos de Balbiani con ubicación yuxtaperinuclear y células auxiliares adosadas hacia el lumen folicular.

Ovocito previtelogénico (Ovp)

Es el ovocito que tiene poco o bastante citoplasma, pero que todavía no ha iniciado la vitelogénesis. Su talla media es de $9,28 \pm 1 \mu\text{m}$ de diámetro, presenta un núcleo de $4,77 \pm 0,41 \mu\text{m}$ de diámetro, una relación N/C de $0,53 \pm 0,03 \mu\text{m}$ y un nucleolo de $1,49 \pm 0,14 \mu\text{m}$ de diámetro. Suele presentar cuerpos de Balbiani rodeando el núcleo e ir acompañado de células auxiliares asociadas (Fig. 4.35.).

Ovocito vitelogénico joven (OvVj)

Es el ovocito que está haciendo la vitelogénesis, es decir, está comenzando a acumular sustancias de reserva, principalmente proteínas, pero también glúcidos y lípidos. Se encuentra adosado a la pared folicular por su eje mayor, todavía no tiene pedúnculo o está levemente pedunculado, y comienza a formar la envoltura vitelina (EV). La entrada en

vitelogénesis se produce tras bloquear su división meiótica en el estadio de diacinesis de la profase de la MeI. Puede contener cuerpos de Balbiani.

Ovocito vitelogénico tardío (OvVtd)

Es el ovocito que está finalizando la vitelogénesis. Su crecimiento es rápido, la parte distal del ovocito aumenta y se redondea hacia el lumen. Presenta núcleo y nucleolo, pero éste ha disminuido su tamaño (decrece). Puede estar pedunculado, a punto de soltarse o suelto, central en el folículo. Su EV es ancha y transparente, y en su interior se pueden observar los repliegues de la membrana en tonos azulados. Con poca frecuencia puede presentar cuerpos de Balbiani. A medida que se desprenden de la pared del folículo, también lo hacen de las células auxiliares que tienen asociadas.

Ovocito postvitelogénico (Ovptv)

Es el ovocito que ya ha finalizado la vitelogénesis y está libre de la pared folicular. Su talla es de $46,35 \pm 2,54 \mu\text{m}$ de diámetro, muestra un talla media nuclear de $23,85 \pm 0,67 \mu\text{m}$ de diámetro, su relación N/C es de $0,53 \pm 0,03 \mu\text{m}$ y no presenta nucleolo o es muy pequeño ($5 \mu\text{m}$ de diámetro). En la parte más interna del núcleo presenta cromosomas diacinéuticos (crmD), que se tiñen de rojo con tinción tricromica. El Ovptv comienza a sufrir rotura de la vesícula germinal (GVBD). Adquiere forma poligonal debido a lo apretado que se encuentra con los demás ovocitos en el interior del folículo. En el momento de la puesta el Ovptv se hincha, pasando de ser poligonal a ser esférico. En este ovocito se observan gránulos en diferente estado de desarrollo. En la parte más externa del Ovptv hay pequeños gránulos corticales de color marrón-rojizo alineados hacia la membrana celular, que evitarán la polispermia a la hora de ser fecundado el ovocito. Debajo de la envoltura vitelina (EV) se observa la membrana celular.

Ovocito en degeneración o reabsorción, ovocito atrésico o picnótico (At)

Es aquel ovocito moribundo deteriorado, con condensación del material del núcleo celular en forma de una masa sólida teñida de color oscuro. Las paredes de estos ovocitos desaparecen progresivamente y disminuye la densidad del citoplasma (observándose más claro) hasta que finalmente se produce su lisis. El deterioro comienza con la distensión del retículo endoplasmático y la degeneración de las mitocondrias. Se rompe la membrana nuclear y aparece necrosis en la periferia del ovocito, viéndose numerosos gránulos de desintegración. Finalmente, desaparece la membrana citoplasmática. Se modifican las reservas vitelinas, y las vacuolas y partículas de glucógeno se acumulan en la periferia del ovocito. La EV se rompe y el contenido celular se vacía en el lumen folicular. En ocasiones puede aparecer rodeado por numerosos hemocitos.

Los ovocitos poseen gránulos de vitelo en maduración progresiva en tamaño y contenido conforme avanza la vitelogénesis, y al final de la misma su población tiende a ser uniforme. Solo se observa un tipo de gránulo de vitelo que puede presentarse en diferentes estados de desarrollo, siendo los menos desarrollados pequeños y que adquieren poca tinción (color grisáceo azulado empleando tinción tricrómica), mientras que los más avanzados en el desarrollo son más grandes y de color marrón rojizo (Fig. 4.33. y Fig. 4.34.).

Se ha observado que, a medida que se desarrolla la ovogénesis de *C. varia*, del mismo modo que en la espermatogénesis, las células van desplazándose desde las paredes hacia el lumen folicular, pero de manera inversa a la espermatogénesis. La talla celular de la

serie gametogénica femenina aumenta progresivamente, pasando de $4,96 \pm 0,17 \mu\text{m}$ de diámetro medio de las Ovg hasta alcanzar las $46,35 \pm 2,54 \mu\text{m}$ de los Ovptv.

También se ha determinado que las células germinales de la serie gametogénica femenina en *C. varia*, al igual que la masculina, forman clones celulares que se dividen de manera sincrónica, lo que permite observar cohortes sucesivas de células germinales femeninas en diferente estadio en una misma muestra gonadal.

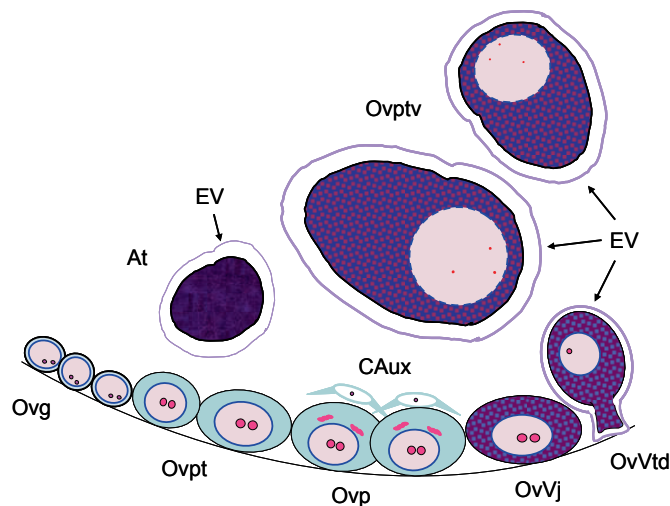


Fig. 4.33. Representación gráfica de parte de un folículo con las diferentes células germinales femeninas. Ovg: ovogonia; Ovpt: ovocito previtelogénico temprano; Ovp: ovocito previtelogénico; OvVj: ovocito vitelogénico joven; OvVtd: ovocito vitelogénico tardío; Ovptv: ovocito postvitelogénico; CAux: células auxiliares; At: ovocito atrésico; EV: envoltura vitelina.

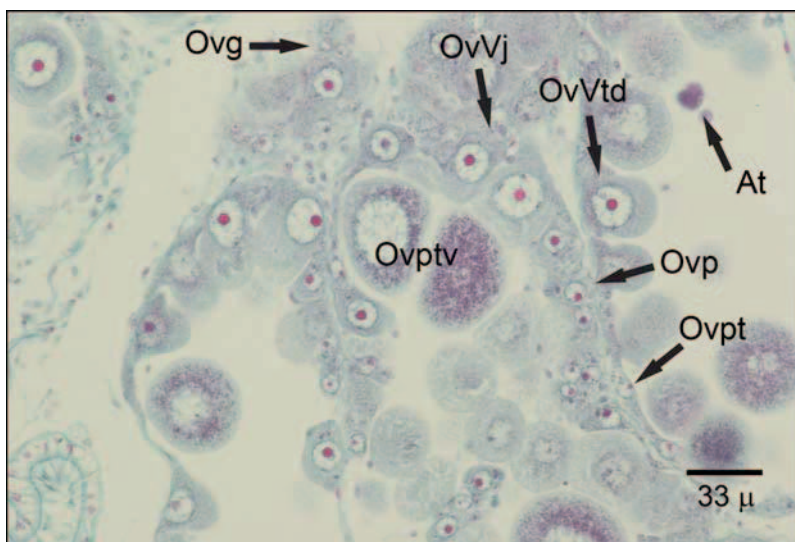


Fig. 4.34. Células germinales de la serie gametogénica femenina. Ovg: ovogonia; Ovpt: ovocito previtelogénico temprano; Ovp: ovocito previtelogénico; OvVj: ovocito vitelogénico joven; OvVtd: ovocito vitelogénico tardío; Ovptv: ovocito postvitelogénico.

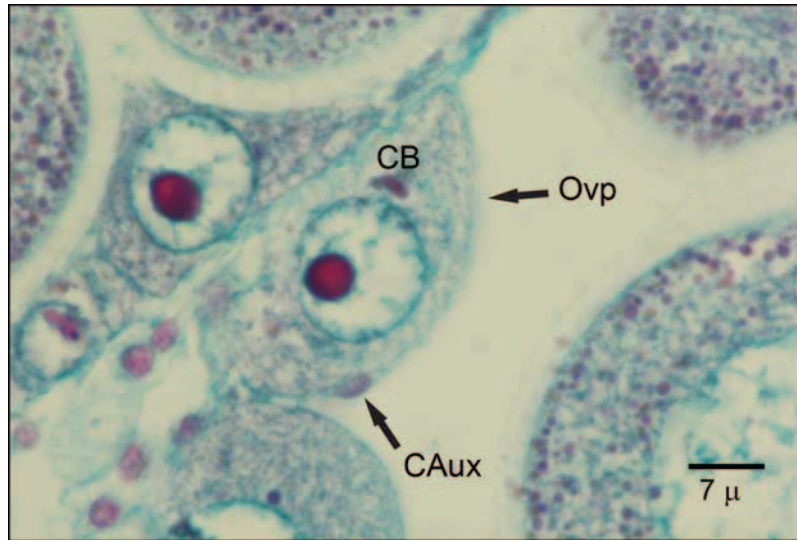


Fig. 4.35. Ovocito previtelogénico con célula auxiliar asociada y cuerpo de Balbiani. Ovp: ovocito previtelogénico; CB: cuerpo de Balbiani; CAux: célula auxiliar.

Estructuras ovocitarias que se forman durante la ovogénesis: envoltura vitelina y cuerpos de Balbiani.

a) Envoltura vitelina (EV)

El desarrollo de la EV está correlacionado con el desarrollo del vitelo, ya que se ha observado que se va formando a medida que se desarrolla la vitelogénesis. Por lo tanto, la presencia de EV puede servir de marcador-guía en caso de existir ovocitos del mismo tamaño unos que crezcan y otros que no. La formación de la EV comienza en los ovocitos de mayor talla, que contienen algo de vitelo y se sitúan adosados en las paredes foliulares según su eje mayor. La envoltura empieza siendo muy fina y va tomando anchura hasta alcanzar un espesor prominente de 3 μm en los ovocitos postvitelogénicos de *C. varia* estudiados. Además, cuando finaliza la formación de la EV, se observa la desaparición de las células auxiliares adosadas a los ovocitos (Fig. 4.36. y Fig. 4.37.). Las células auxiliares se adosan al ovocito cuando es previtelogénico y permanecen adheridas durante la vitelogénesis; cuando este proceso está finalizando tales células desaparecen. Estas células están presentes en la masa celular conjuntiva (MCC) donde están las ovogonias y se producen las proliferaciones clonales. No se conoce cómo el ovocito produce la EV, quizás las células auxiliares podrían participar.

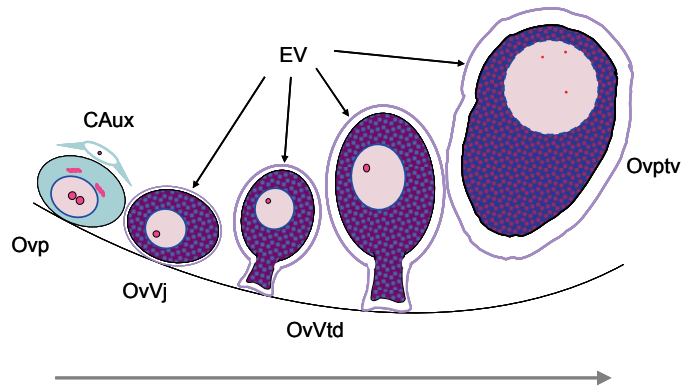


Fig. 4.36. Representación gráfica del desarrollo de la envoltura vitelina y la vitelogénesis en los ovocitos de *Chlamys varia*. EV: envoltura vitelina; Ovp: ovocito previtelogénico; OvVj: ovocito vitelogénico joven; OvVtd: ovocito vitelogénico tardío; Ovptv: ovocito postvitelogénico.

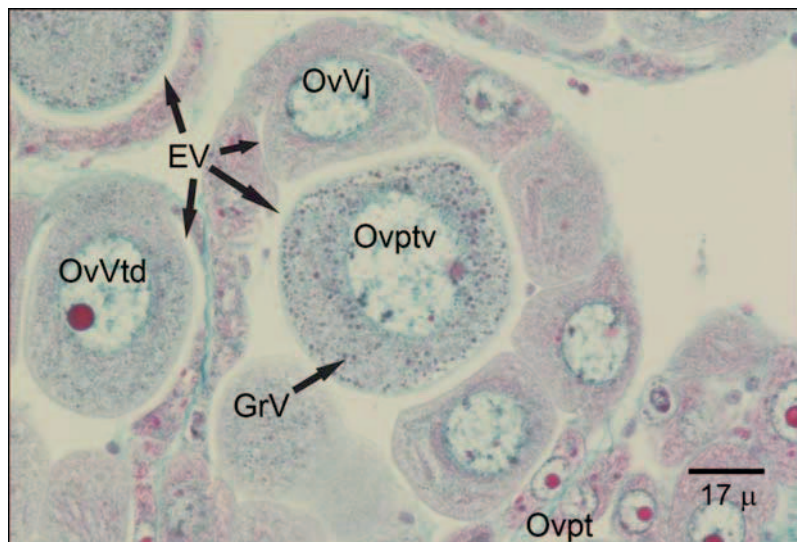


Fig. 4.37. Desarrollo de la envoltura vitelina y la vitelogénesis en los ovocitos de *Chlamys varia*. EV: envoltura vitelina; GrV: gránulos de vitelo; Ovpt: ovocito previtelogénico temprano; OvVj: ovocito vitelogénico joven; OvVtd: ovocito vitelogénico tardío; Ovptv: ovocito postvitelogénico.

b) Cuerpos de Balbiani (CB)

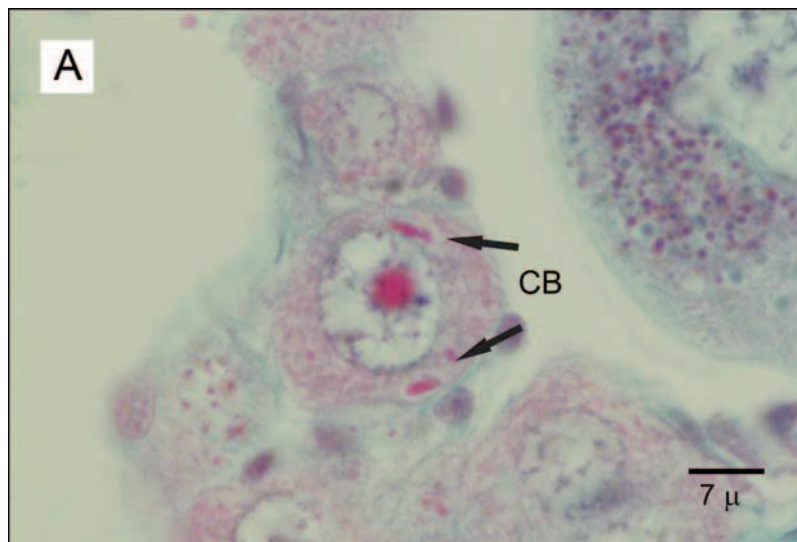
Los CB reciben en la bibliografía otros nombres tales como *cuerpos densos*, *cuerpos cromatoides*, *nubes mitocondriales*, *cuerpos vitelinos* y *núcleos vitelinos* (De Smedt *et al.*, 2000; Extavour & Akam, 2003; Kloc *et al.*, 2004a; Kloc *et al.*, 2004b). Son estructuras condensadas que aparecen en la región yuxtaperinuclear de los ovocitos de algunas especies (Klock *et al.*, 2004); no son organelas celulares propiamente dichas, sino que consisten en un conglomerado constituido por mitocondrias, parte del aparato de Golgi, retículo endoplasmático, multivesículas, ribosomas, ARNm y proteínas; en la tinción tricrómica tiñen de rojo debido a los ARNm y a los ribosomas que contienen.

La funcionalidad de los cuerpos de Balbiani se ha asociado con la presencia demostrada en ellos de *factores determinantes de línea germinal* que especifican, mediante *preformación* vía herencia maternal citoplasmática, la *línea germinal* en el embrión (Extavour & Akam, 2003), y ello debido a que tales factores consisten en transcritos de ARNm correspondientes a genes del ovocito que son determinantes de línea germinal, genes *vasa* entre ellos, en proteínas procedentes de la lectura de tales transcritos y en otras

proteínas codificadas también por otros genes determinantes de línea germinal. Tal conglomerado de moléculas constituye un conjunto de *factores determinantes de línea germinal* que produce el ovocito antes de ser fecundado y se localizan agrupados en su citoplasma en los ya indicados cuerpos de Balbiani.

Cuando el ovocito es fertilizado y ocurre su segmentación en la embriogénesis, los cuerpos de Balbiani se distribuyen asimétricamente entre los blastómeros conforme la segmentación avanza, y acaban localizados en el micrómero d.4, que es el origen de la línea germinal en los moluscos cuya embriogénesis se desarrolla mediante *segmentación espiral*, que es el caso de los moluscos bivalvos (Extavour & Akam, 2003).

Hemos observado que los ovocitos de *Chlamys varia* tienen cuerpos de Balbiani; aparecen de forma prominente en los ovocitos previtelogénicos (Fig. 4.38.); se manifiestan como dos corpúsculos con forma de barra ubicados en el citoplasma perinuclear y, también, como una línea gruesa adosada exteriormente a la membrana nuclear; en los ovocitos postvitelogénicos apenas se observan, sin embargo, esto no quiere decir que los constituyentes de los cuerpos hayan desaparecido, sino que es posible que se hayan dispersado por el citoplasma. La presencia de los cuerpos de Balbiani en *Chlamys varia* indica que en este molusco la determinación de la línea germinal podría ocurrir mediante *preformación* vía herencia maternal.



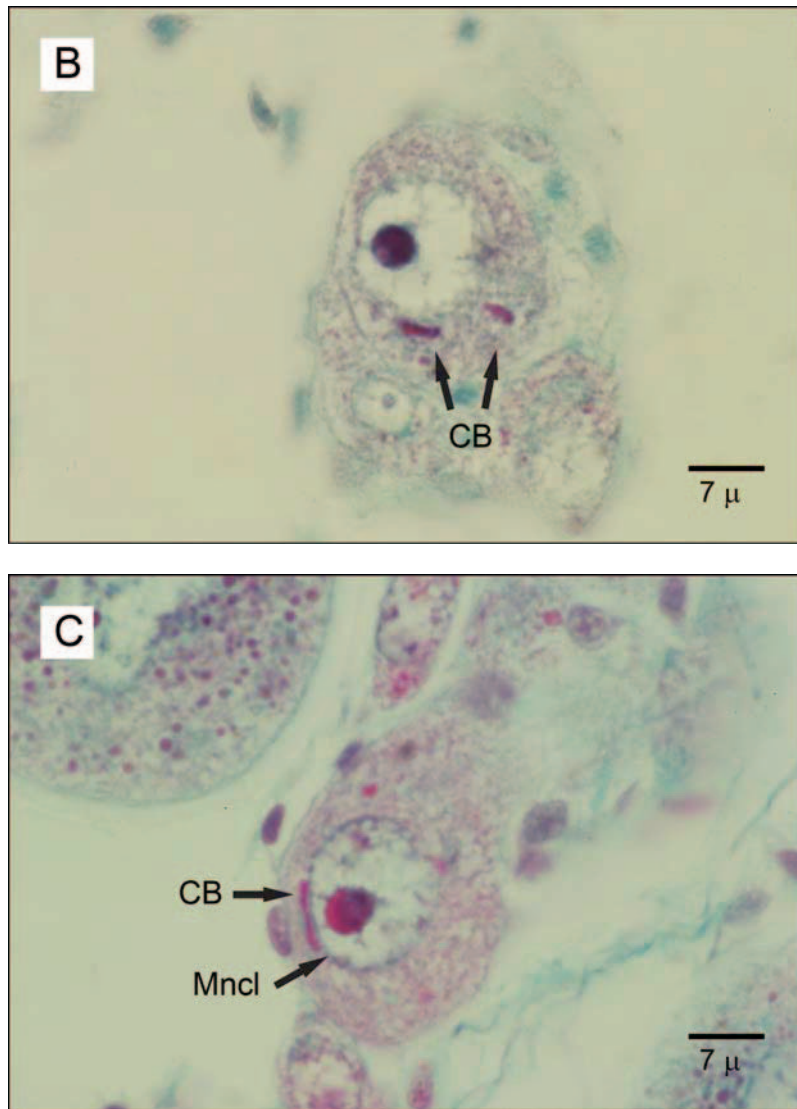


Fig. 4.38. A, B, C. Cuerpos de Balbiani presentes en los ovocitos de *C. varia*. CB: cuerpo de Balbiani; Mncl: membrana nuclear.

Atresia ovocitaria fisiológica

La atresia ovocitaria es el proceso de degeneración y lisis de los ovocitos por enzimas celulares que producen citólisis directa y ocasiona ovocitos picnóticos. La atresia produce grandes cambios morfológicos y bioquímicos que varían la afinidad tintorial en las preparaciones histológicas, aumenta la basofilia citoplasmática, se forman vacuolas cromófobas, cambia la forma del núcleo, se disuelve el nucleolo, se rompe la membrana nuclear, e incluso pueden agruparse restos de varios ovocitos en masas necróticas. Distinguimos una *atresia fisiológica* y una *atresia inducida*; la primera es un fenómeno normal que ocurre en los ovocitos de las especies con reproducción sexual; la segunda es una anomalía provocada por factores ambientales tales como cambios de presión osmótica y productos contaminantes.

La *atresia fisiológica* ocurre mayoritariamente en los ovocitos postvitelogénicos, y puede tener dos explicaciones, una es que parece como si los ovocitos que han llegado al estado de madurez tuviesen una vida media de permanencia en la gónada, y si no hay una señal de puesta deviniesen atrésicos; la otra explicación alude a deficiencias bio-

químicas de coordinación en el ovocito entre la finalización de la vitelogénesis y la reanudación de la meiosis. Si finalizada la vitelogénesis el ovocito no puede reemprender la meiosis entra en atresia. Por tanto, hay dos causas que producirían atresia fisiológica de los ovocitos: la ausencia de una señal de puesta y la incapacidad bioquímica de reanudar la meiosis. No sería lógico que la zamburiña no descargara unos ovocitos que se han producido para la puesta, ya que invertiría mucha energía en la producción de ovocitos no servibles, aunque después fuesen absorbidos para la producción de energía. Parece como si la zamburiña no fuese totalmente eficiente en cuanto a la viabilidad de los ovocitos producidos para la fecundación, es decir, como si fallase el mecanismo que sustenta y provoca la puesta o, también, fracasase la reanudación del proceso meiótico.

En *C. varia* se observan focos de atresia en los folículos que no evacuaron, pero la atresia no afecta solamente a los Ovptv, sino que ocurre también en los Ovp que no llegan a iniciar la vitelogénesis (Fig. 4.39.). En este último caso debe existir un problema bioquímico de coordinación entre la primera frenada meiótica del ovocito y el inicio de la vitelogénesis; también puede ocurrir que los ovocitos previtelogénicos devengan atrésicos por un error en el proceso meiótico que provoque su aborto (Hunt & Hassold, 2002).

El proceso de atresia puede estar localizado, afectando únicamente a un folículo, en un grupo de folículos o, en general, en toda la gónada. Posteriormente, los restos celulares de los ovocitos degenerados pueden ser evacuados a través de los gonoductos o bien reabsorbidos.

En la serie gametogénica masculina de *C. varia* no se observan casos de atresia, y esto puede ser debido a que: **a)** en la meiosis de los espermatoцитos primarios no hay frenadas ni reanudaciones de la meiosis; **b)** no ocurre el proceso de vitelogénesis y, por tanto, no hay que coordinar bioquímicamente la vitelogénesis con la meiosis; **c)** hay menos abortos en la meiosis de los espermatoцитos primarios que en la de los ovocitos primarios (Hunt & Hassold, 2002). Sin embargo, se ha observado ligera fagocitosis de espermatozoides durante su producción, y crecida fagocitosis de los mismos después de las puestas, pero esto no es atribuible a un proceso de atresia fisiológica de espermatozoides, sino a una activación de los hemocitos para destruir espermatozoides anormales y para eliminar los espermatozoides que restan después de las puestas.

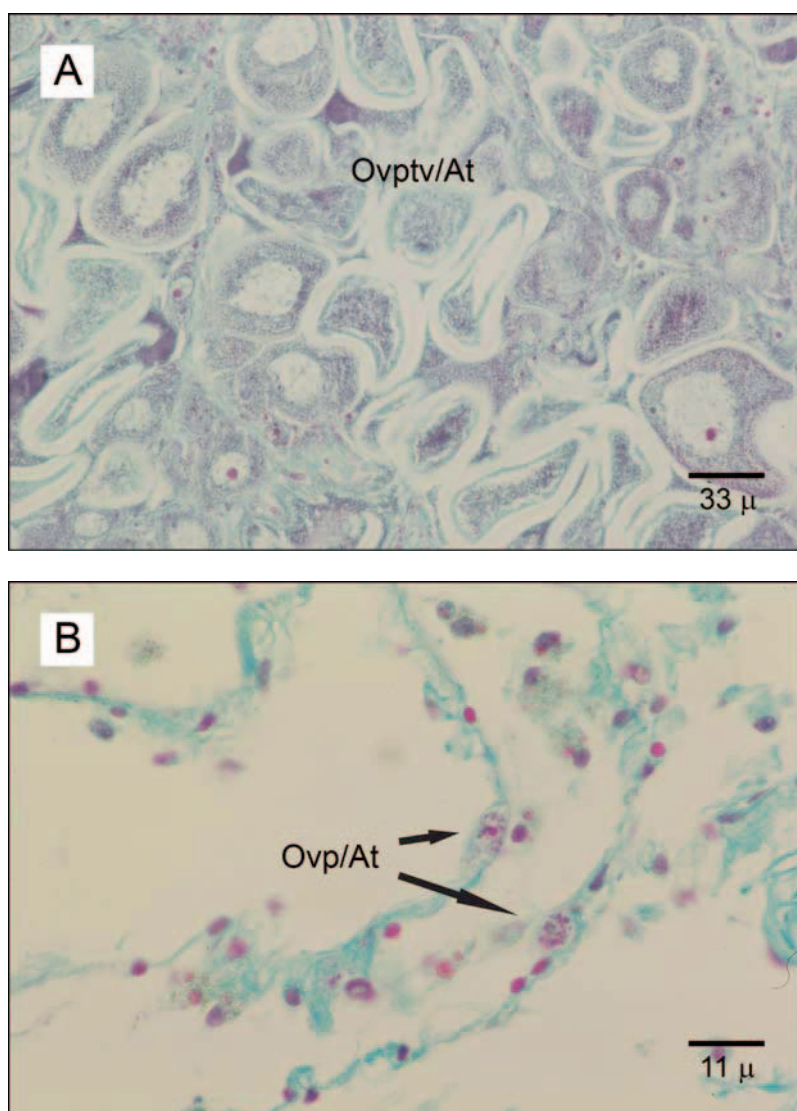


Fig. 4.39. Atresia ovocitaria fisiológica. A) Atresia de ovocitos postvitellogénicos, B) Atresia de ovocitos previtelogénicos. Ovptv/At: atresia de ovocitos postvitellogénicos; Ovp/At: atresia de ovocitos previtelogénicos.

4.3.3 Ciclo reproductor

El análisis histológico descrito en este capítulo, empleado como método complementario al cálculo de los índices de condición (Capítulo 3), permite observar de forma más exhaustiva la evolución en el desarrollo gonadal y gametogénico de *C. varia* durante su ciclo reproductivo.

El ciclo reproductor de *C. varia* se compone de una serie de fases secuenciales tanto en el desarrollo de la gónada como en la formación de los gametos, tal como se puede observar en la siguiente gráfica:

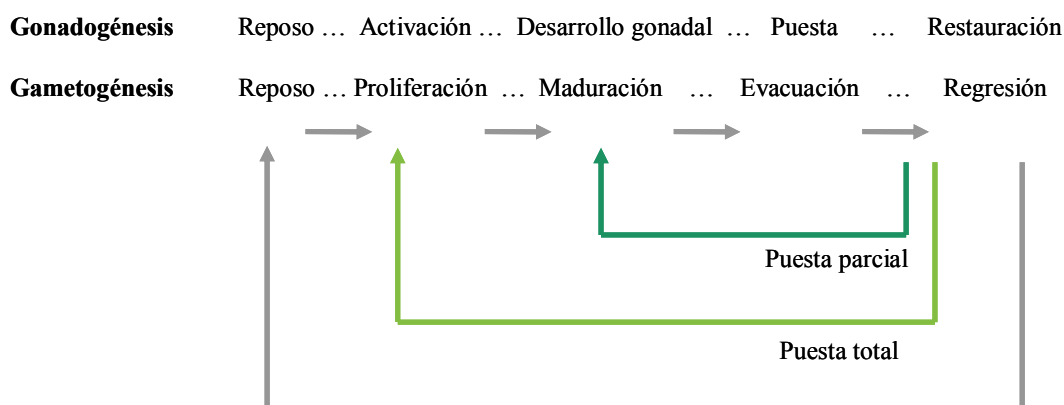


Fig. 4.40. Etapas del ciclo reproductor.

En este apartado se realiza una caracterización descriptiva de las fases de desarrollo gonadal que tienen lugar a lo largo del ciclo gametogénico de *Chlamys varia*. En base a las observaciones microscópicas, se han establecido los estadios que componen la escala gametogénica y también se ha definido su temporalidad.

4.3.3.1 Estadios del ciclo reproductor

Para investigar la evolución del ciclo reproductivo de la zamburiña se utilizó la escala de estadios de desarrollo gonadal (o ciclo gametogénico) descrita por Lubet (1959), y se aplicó independientemente a la fase sexual masculina y a la femenina. Se estudiaron individuos juveniles y adultos, o sea, desde que el animal hace su primera gónada (*gónada primaria*) y de aquí en adelante en los animales adultos.

Tanto para la fase sexual masculina como para la femenina de *C. varia* se estableció la siguiente sucesión de estadios del ciclo gametogénico: **a)** Gonadogénesis/foliculogénesis primaria (G1); **b)** Estadio I; **c)** Estadio II; **d)** Estadios IIIA: IIIA1 y IIIA2; **e)** Estadio B; y **f)** Estadio D. Este último estadio únicamente se observa en la fase sexual masculina.

Estadios del ciclo gametogénico masculino (Fig. 4.41. y Fig. 4.42.)

Gonadogénesis/foliculogénesis inicial o primaria (G1)

Es un estadio que definimos para las zamburiñas de pequeño tamaño, que todavía se encuentran en fase de formación de su primera gónada (gónada primaria, G1). Se trata de la gonadogénesis inicial de la G1 y se caracteriza por el comienzo de la producción de tejido conjuntivo, la *gonoductogénesis* y la *foliculogénesis*. Durante el estudio no se ha observado ninguna zamburiña que manifestase en toda su gónada una **fase sexual masculina (FS♂) pura**, ya que esta FS siempre comienza su desarrollo en una gónada mixta (Gm), en la cual la fase sexual funcional (FSF) siempre es la FS♂, pero en la gónada siempre hay presencia de la FS♀ a nivel de ovocitos primarios previtelogénicos; es decir, en la población de animales de *C. varia* estudiada no hay individuos que sean *machos puros* en cuanto al género sexual.

Estadio I

Es el estadio de división mitótica y proliferación con reducción de tamaño de las espermatogonias (PRT). Al mismo tiempo se observa una gran producción de nuevos gonoductos y folículos gonadales.

Estadio II

Es el proceso de división meiótica de los clones de espermatoцитos primarios (Spcl/c) y, a continuación, de los espermatoцитos secundarios (Spcl2), donde se desarrollarán las meiosis (I y II), obteniendo las espermátidas tempranas (Spdt). Durante este estadio, el lumen del folículo permanece vacío.

Estadio IIIA o estadio de maduración

Estadio IIIA1

En este estadio aún hay series gametogénicas que todavía están haciendo el proceso meiótico, pero predominan las series gametogénicas que ya están en *espermiogénesis*, o sea, la diferenciación de las espermátidas a espermatozoides (proceso Spdt→Spdtd→Spz). En esta fase se puede observar toda la SG masculina, desde las Spg adosadas a la pared folicular hasta los Spz en el centro del folículo. Si las células de la serie gametogénica masculina dominantes en el corte histológico son los Spz, marcarán el final de este estadio. También se puede observar que los folículos aumentan en tamaño y el conjuntivo interfolicular disminuye.

Estadio IIIA2

En este estadio los folículos tienen prácticamente sólo espermatozoides (Spz), y tanto la banda de células realizando la meiosis (estadio IIIA1), como las Spg son casi inexistentes; los Spz llegan hasta la pared folicular. No se puede decir que haya un IIIA2 puro, pero la tendencia de las series gametogénicas de la FS♂ es a su agotamiento completo en la producción de Spz, no quedando apenas Spg para poder reiniciar la FS♂. En esta fase, los folículos adquieren su talla máxima, se produce la fusión de las paredes foliculares de los folículos y no existe prácticamente tejido conjuntivo interfolicular. Es un estadio estable a partir del cual la zamburiña ya está preparada para la puesta.

Estadio B

Es el estadio de puesta, caracterizado por la emisión de gametos a los gonoductos. Los folículos están distendidos y parcial o totalmente vacíos; en esta situación se observa con claridad que los folículos se forman a partir de los gonoductos porque algunos folículos aparecen claramente unidos a los gonoductos. Presenta escaso conjuntivo y el que persiste está muy desorganizado. Los folículos que aún no han evacuado se observan con los Spz arremolinados y, también, los Spz se alinean en columnas con los flagelos centrales y las cabezas laterales. Los gametos residuales que permanecen en la gónada son reabsorbidos por los hemocitos. En las paredes foliculares puede darse cierta permanencia de Ovg con alguna proliferación, incluso pudiendo llegar a comenzar la meiosis I femenina, pero la tendencia es a la desnaturalización y regresión de estas Ovg. Se observa también cierta permanencia de gonoductos e islotes de músculo liso aislados, sin conjuntivo alrededor.

No se observa el estadio C

Es posible que en la zamburiña no exista el estadio C (o de restauración) de la escala de Lubet, y se pase directamente desde el estadio B o D al estadio I del siguiente ciclo. Otra posibilidad es que sea un estadio de muy poca duración y escasa significación funcional, y que por consiguiente se realice tan rápido que no se llega a apreciar.

Estadio D

Es el último estadio del ciclo gametogénico. Es el estadio de agotamiento y se caracteriza por la presencia de folículos totalmente vacíos y distendidos o incluso por la desaparición de los mismos. Se observa escaso tejido conjuntivo y mucha desorganización del mismo, y permanencia parcial de la estructura gonoductal en forma de gonoductos aislados sin conjuntivo a su alrededor. Parte del músculo liso también desaparece, con ligera permanencia de islotes musculares aislados, desorganizados y retraídos. Se observa hemocitosis intrafolicular. Debería ser un estadio de larga duración hasta lograr el vaciamiento total de los gametos en los lúmenes foliculares y la degradación de todo el contenido folicular, sin embargo en *C. varia* aparece en un porcentaje muy reducido de gónadas, observándose de forma general estadios B muy avanzados, seguidos de estadios I y II del siguiente ciclo. Al depender la tinción del estado fisiológico de la muestra, los estadios D suelen aparecer en tonos más pálidos que el resto de los estadios del ciclo gametogénico.

Estadio 0 o de reposo reproductivo

No se observa el estadio 0 (o de reposo) en el ciclo gametogénico de la FS♂ de *C. varia*. En la escala de Lubet, el estadio 0 es el primero del ciclo gametogénico, viene después del estadio D del ciclo gametogénico anterior y se caracteriza porque el animal hace tejido de reserva (células vesiculares, caso de los *venéridos*; o células vesiculares y adipogranulares, caso de los *mitílicos*) antes de iniciar la gametogénesis. No se ha observado que la zamburiña desarrolle este tipo de tejido de forma amplia, aunque sí se han visto tipos celulares, aislados o en pequeños grupos, que se podrían calificarse como células vesiculares. La zamburiña pasa directamente desde un estadio B ó D de un ciclo al estadio I del ciclo siguiente.

Es necesario señalar que en zamburiña el paso de un estadio al siguiente se realiza de una manera progresiva, por lo tanto los límites entre los estadios no están muy definidos y es posible el solapamiento de los mismos en una misma gónada. En este estudio del ciclo reproductor en *C. varia*, se considerará que la gónada se encuentra en el estadio que predomine en la muestra.

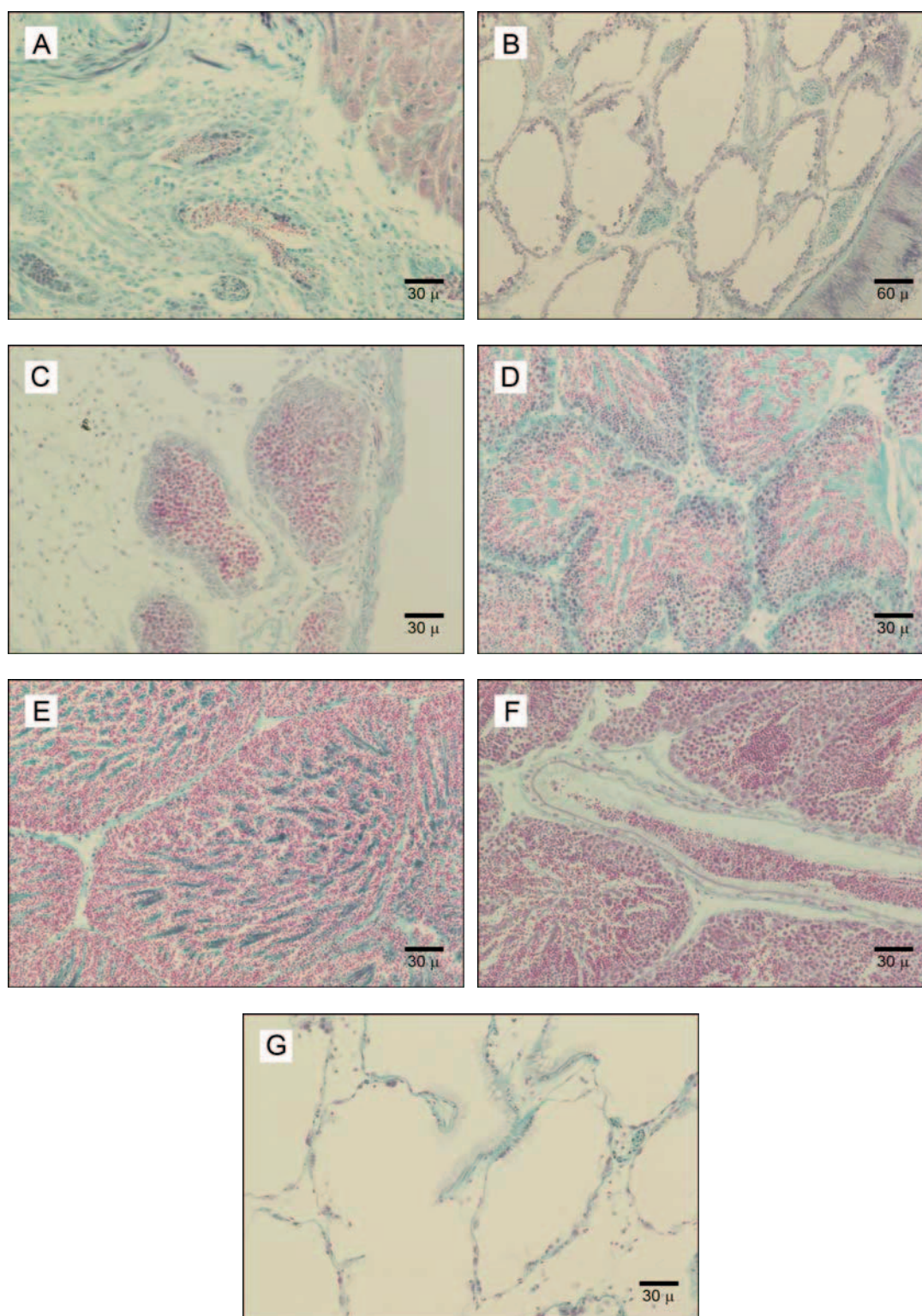


Fig. 4.41. Estadios del ciclo gametogénico de la fase sexual masculina de *Chlamys varia*. **A)** Gonadogénesis primaria (GI); **B)** Estadio I; **C)** Estadio II; **D)** Estadio IIIA1; **E)** Estadio IIIA2; **F)** Estadio B; **G)** Estadio D.

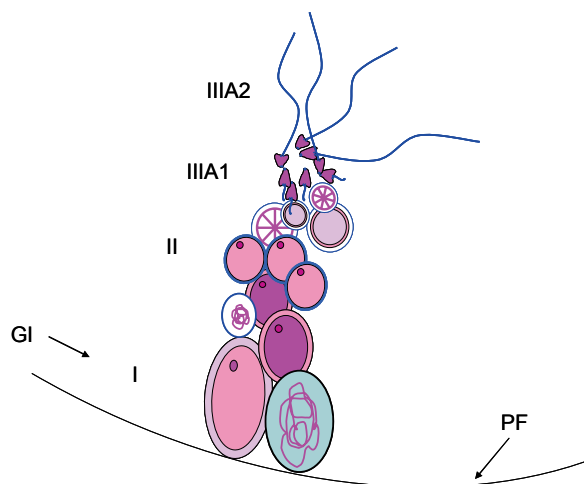


Fig. 4.42. Representación gráfica, en un folículo gonadal, de la secuencia de los estadios del ciclo gametogénico de la fase sexual masculina. **GI**: Gonadogénesis primaria; **I**: Estadio I; **II**: Estadio II; **IIIA1**: Estadio IIIA1; **IIIA2**: Estadio IIIA2; **PF**: Pared folicular. Se ilustra hasta el Estadio IIIA2.

Estadíos del ciclo gametogénico femenino (Fig. 4.43. y Fig. 4.44.)

Gonadogénesis/foliculogénesis inicial o primaria (GI)

Al igual que se comentó en el caso de la GI en el macho funcional, éste es un estadio que se define para las zamburiñas pequeñas que están creando su primera gónada (G1). En el caso de las hembras, comienza con el desarrollo de una gónada femenina en la que se manifiesta una **fase sexual femenina (FS_♀) pura** en toda la gónada del animal, y sin ninguna manifestación de la FS_♂. Es la gonadogénesis inicial de la G1 y se caracteriza por la *gonoductogénesis*, la *foliculogénesis* y el comienzo de la producción de tejido conjuntivo. Es decir, en la población de animales de *C. varia* estudiada sí hay individuos que son *hembras puras* en cuanto al género sexual desde que el molusco hace su primera gónada.

Estadio I

Es el estadio de la proliferación de ovogonias, el inicio y la primera frenada de la meiosis, y la formación de ovocitos primarios. Es un estadio en el que se pueden observar mitosis independientes y proliferaciones clonales de Ovg, así como el comienzo de la meiosis I y la primera frenada meiótica, o sea, la producción de ovocitos primarios. Este estadio también incluye la producción del tejido conjuntivo y la formación de gonoductos y folículos gonadales. Cuando en animales adultos ocurre tras una puesta, es un estadio largo, ya que la gónada debe recuperarse de nuevo. La producción y desarrollo de ovocitos no es sincrónica en la gónada y los ovocitos que se forman pueden comenzar la vitelogénesis, por lo que aparecen cohortes de ovocitos con diferentes grados de desarrollo y crecimiento.

Estadio II

Es el inicio de la vitelogénesis, con presencia numerosa de ovocitos produciendo vitelo y adheridos a la pared folicular según su eje mayor (acostados). En este estadio, cuando los ovocitos son vitelogénicos iniciales, poseen núcleo y nucleolo. El tamaño celular total del ovocito, así como el del núcleo y nucleolo, van aumentando a medida que se desarrolla la vitelogénesis. Los ovocitos comienzan a formar la envoltura vitelina (EV). El desarrollo de la EV y la vitelogénesis son dos fenómenos correlacionados. El lumen de los folículos se encuentra vacío.

Estadio IIIA o estadio de maduración

Estadio IIIA1

Es la continuación de la vitelogénesis, en donde el ovocito forma su pedúnculo (disminuyendo las presiones laterales) y comienza a desprenderse de la pared hacia el lumen folicular. Su citoplasma adquiere un mayor tamaño y se llena de vitelo. La EV del ovocito continúa su desarrollo. Son visibles tanto el núcleo como el nucleolo. Durante este estadio se incrementa enormemente el número y el tamaño de los ovocitos. Los folículos aumentan en tamaño al mismo tiempo que el conjuntivo interfolicular disminuye.

Estadio IIIA2

Es durante esta fase cuando el ovocito pierde su nucleolo, o disminuye mucho su tamaño, con permanencia del núcleo. Los ovocitos resultantes, frenados en la profase de la Me I, con vitelo desarrollado, núcleo, ausencia de nucleolo y con la EV de mayor anchura, están ya preparados para hacer la GVBD, y es en este estadio donde la mayor parte de los ovocitos la hacen. En este estadio los ovocitos finalizan la vitelogénesis, hacen la GVBD y quedan preparados, como ovocitos funcionales, para la puesta. Son ovocitos poligonales debido a la fuerte compresión que experimentan entre sí dentro del folículo. Durante este estadio los ovocitos se desprenden de las paredes foliculares.

Estadio B

Al igual que ocurre en la FS♂, este es el estadio de puesta, caracterizado por la emisión de gametos a los gonoductos. Los folículos están distendidos y parcial o totalmente vacíos. También aquí se observa claramente que los folículos se forman a partir de los gonoductos, porque algunos folículos aparecen palmariamente unidos a gonoductos. El tejido conjuntivo es escaso y está desorganizado. Se observa permanencia de Ovg en las paredes foliculares con alguna proliferación de Ovg, incluso pudiendo llegar a comenzar la meiosis I femenina, pero la tendencia es a la desnaturalización y regresión de estas Ovg. Se observa también cierta permanencia de gonoductos e islotes de músculo liso aislados, sin conjuntivo alrededor. Los gametos residuales son liberados o reabsorbidos por los hemocitos. Mediante el análisis histológico de la gónada de *C. varia* se puede observar que durante la emisión de los ovocitos, no solo se liberan ovocitos maduros de apariencia normal, sino también inmaduros y ovocitos atrésicos.

No se observa estadio C

No se ha observado este estadio en las hembras. Del mismo modo que en los individuos macho funcionales que desarrollan la FS♂, es posible que no exista este estadio C (o de restauración) y se pase directamente desde el estadio B al estadio I del ciclo siguiente, o bien que el estadio C se realice tan rápido que no se llega a apreciar ni tampoco sea funcionalmente importante para el molusco.

Estadio D

Siendo un estadio de larga duración, no se observa ningún caso de este estadio en el ciclo gametogénico femenino, con lo cual se sugiere para esta fase sexual el paso directo desde el estadio B al estadio I del ciclo siguiente.

Estadio 0 o de reposo reproductivo

Tampoco en las hembras se observa el estadio 0 (o de reposo reproductivo), y aquí se dan por reproducidos los comentarios y argumentaciones que se hicieron para el mismo estadio en el caso del ciclo gametogénico de la fase sexual masculina.

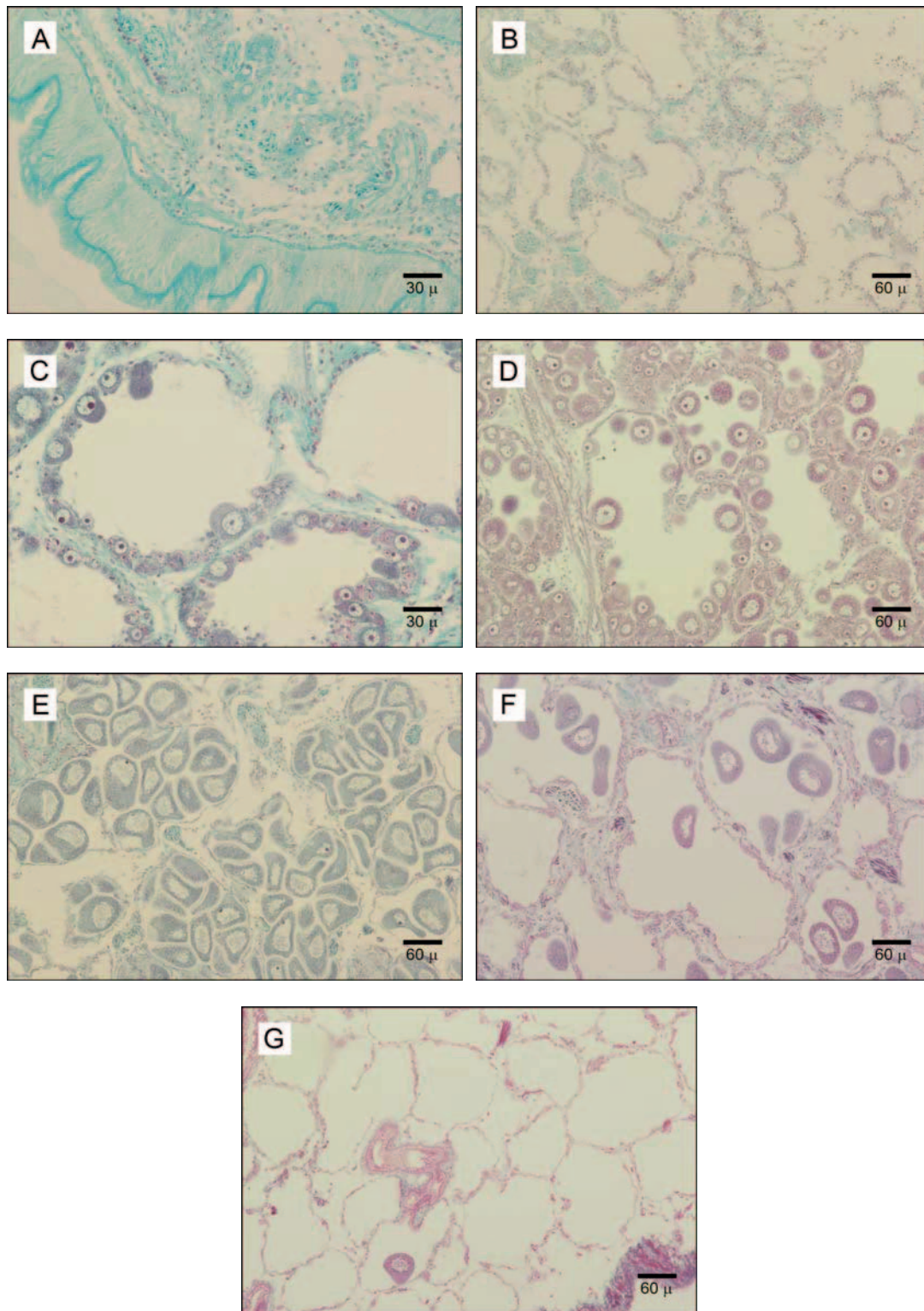


Fig. 4.43. Estadios del ciclo gametogénico de la fase sexual femenina de *C. varia*. **A)** Gonadogénesis primaria (GI); **B)** Estadio I; **C)** Estadio II; **D)** Estadio IIIA1; **E)** Estadio IIIA2; **F)** Estadio B; **G)** Estadio D. Aunque en la fotografía aparece el estadio D, debe constar que en ningún caso fue el estadio predominante en una gónada femenina.

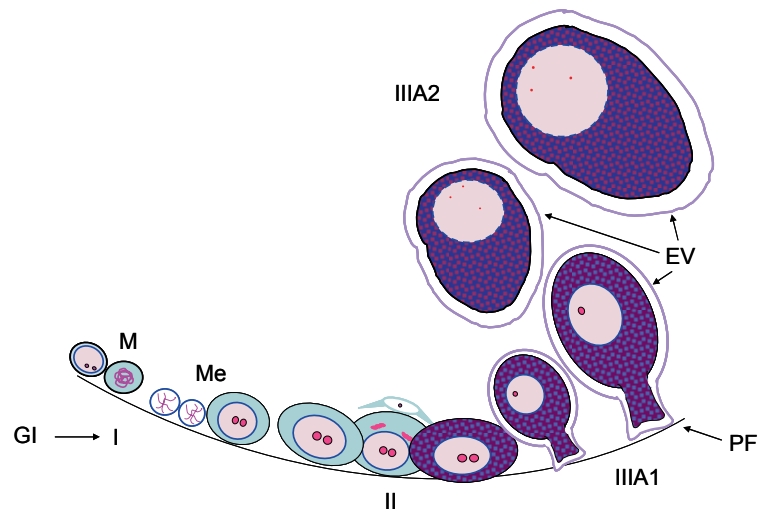


Fig. 4.44. Representación gráfica, en un folículo gonadal, de la secuencia de los estadios del ciclo gametogénico de la fase sexual femenina de *C. varia*. **GI**: Gonadogénesis primaria; **I**: Estadío I; **II**: Estadío II; **IIIA1**: Estadío IIIA1; **IIIA2**: Estadío IIIA2; **M**: Mitosis; **Me**: Meiosis; **PF**: Pared folicular. Se ilustra hasta el estadío IIIA2.

4.3.3.2 Temporalidad del ciclo reproductor

Se denominará “periodo reproductivo (PR)” al periodo de tiempo necesario para que se lleve a cabo el desarrollo completo de una gónada, incluyendo la totalidad de las puestas hasta que la gónada emite prácticamente la totalidad de los gametos maduros que ha producido y se vacía. Además, en el desarrollo de una gónada y, por lo tanto en un PR, se ha observado que puede formarse más de una cohorte de células germinales (1-3 cohortes por PR), estando compuesta cada cohorte por las células de una fase sexual masculina o femenina (Fig. 4.45.).

En un periodo reproductivo, el molusco sólo produce una gónada, con los fenómenos que en ella ocurren, y que son: foliculogénesis, gametogénesis, emisiones de gametos, puestas y restauraciones (éstas, si las hay), hasta finalizar con el agotamiento de la gónada y la entrada del molusco en lo que se denomina “estadío de reposo gonadal” antes de formar la siguiente gónada, que ya pertenecerá al siguiente periodo reproductivo. Por tanto, hay una correspondencia biunívoca entre periodo reproductivo y gónada y, en consecuencia, entre el número de periodos reproductivos y el número de gónadas que el molusco hace durante su historia de vida. Denominamos gónada primaria (G1) a la primera gónada que hace el molusco en su historia de vida, y que coincide con su primer periodo reproductivo (PR1), y así en adelante.

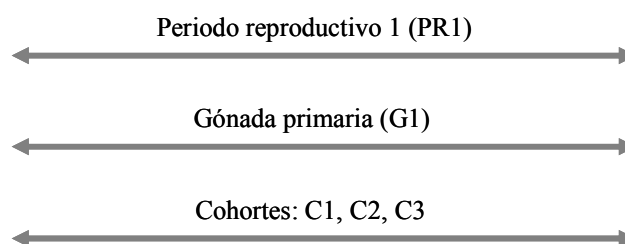


Fig. 4.45. Representación gráfica de la correspondencia entre el primer periodo reproductivo, el desarrollo de la gónada primaria y las cohortes de células germinales que pueden aparecer durante el desarrollo de la gónada en un juvenil. PR1: primer periodo reproductivo del juvenil; G1: gónada primaria; C1- C3: cohortes de células germinales que aparecen durante el desarrollo de la gónada primaria.

La tasa de producción de gónada, o tamaño gonadal, se mantiene constante durante el primer periodo reproductivo (PR1) del juvenil, sin embargo, cuando esta tasa se incrementa, se da el paso del PR1 al segundo periodo reproductivo (PR2) que se corresponde con el paso de la gónada primaria (G1) a la gónada secundaria (G2). Además del aumento en el tamaño gonadal, también se produce un aumento en el tamaño y en la abundancia de los folículos gonadales. El PR1 de *C. varia* cultivada en suspensión en las rías gallegas abarca por lo menos desde el 3/10/06, momento en el que las zamburriñas presentaban 8,5 meses de edad, y momento en el que se iniciaron los estudios, hasta aproximadamente los 24,5 meses de edad, correspondiendo con el 29/01/08. Por lo tanto, la duración del primer periodo reproductivo de *C. varia* en Galicia es de aproximadamente unos 16 meses.

Partiendo de esta conceptualización y de esta realidad, los resultados sobre la temporalidad del ciclo reproductivo de *C. varia* cultivada en las rías gallegas se estudian dividiendo dicho ciclo reproductivo en los siguientes periodos reproductivos observados durante este estudio: PR1 (del 3/10/06 al 29/01/08, 16 meses) y PR2 (del 1/02/08 al 18/08/08, 6,5 meses), sin embargo, es necesario señalar que este estudio no abarcó la totalidad del PR2.

El análisis de las muestras histológicas de la gónada de *C. varia* confirma, del mismo modo que en el estudio del índice de condición gonadal (Capítulo 3), un desarrollo gonadal que muestra un patrón estacional. La variación estacional observada en la proporción de los estadios del ciclo gametogénico se describe a continuación:

Temporalidad del ciclo reproductivo de *C. varia* durante el primer periodo reproductivo (PR1). Gonadogénesis, gametogénesis y puestas.

En la población de *Chlamys varia* estudiada, el primer periodo reproductivo (PR1) corresponde a juveniles que hacen su primera gónada, y abarca desde **octubre-2006** hasta finales de **enero-2008**, lo que hace un total de **16 meses**. La estructura de esta población en clases sexuales es la siguiente: **a)** Animales bisexuales con **fase sexual masculina funcional** (FSF♂, FS♀L), 68%; **b)** Animales que son **hembras puras** (♀), 30%; **c)** Animales **bisexuales macho-hembra** (bisexual♂-♀), 1%; **d)** Animales con clase sexual indeterminada (i), 1%. Durante este periodo reproductivo, donde sólo se desarrolla una gónada, acontecen procesos de gametogénesis, puestas y cambios de sexo. La gonadogénesis de este periodo reproductivo tiene dos etapas, una etapa **inicial** (que denominamos gonadogénesis inicial, GI) y otra de **estabilización**. En la etapa **inicial** se manifiestan claramente la espermatogénesis, la maduración y la puesta de la FS♂ en los animales bisexuales (FSF♂, FS♀L), mientras que la ovogénesis en las hembras puras es más lenta; esta etapa dura **6 meses y medio**, se extiende desde **octubre-2006** hasta mediados de **marzo-2007**, y los moluscos la inician (en este estudio) con una edad de **8,5 meses** y la finalizan con **14 meses**. Así mismo, en esta etapa, la FS♂ de los animales bisexuales (FSF♂, FS♀L) hace una maduración rápida y una puesta “fugaz”. Al finalizar esta etapa de gonadogénesis inicial, se asienta la espermatogénesis de los bisexuales, y las hembras puras logran su plena capacidad de ovogénesis; cuando esto ocurre los animales tienen 14 meses. Finalizada la etapa inicial (marzo-2007), tanto los animales bisexuales como las hembras puras realizan ciclos gametogénicos estables y completos.

Los acontecimientos principales del primer periodo reproductivo se visualizan en la Fig. 4.46., y la ocurrencia temporal de sus estadios se representa en la Fig. 4.48. A partir de la etapa de **estabilización** de este periodo reproductivo ocurren los ciclos gametogénicos estables de los animales bisexuales y de las hembras puras. El perfil poblacional del desarrollo gonadal en esta etapa es el siguiente: **a)** se extiende desde mediados de **marzo-2007** hasta finales de **enero-2008** y abarca un total de **10,5 meses**; **b)** los individuos bisexuales desarrollan la FSF♂, y las hembras puras desarrollan su FS♀; **c)** los estadios I y II son más frecuentes en el inicio de esta etapa (marzo-abril-2007) y al final de este período reproductivo (enero-2008), porque entronca con el siguiente período reproductivo (PR2); **d)** los estadios de maduración-madurez (**IIIA1-IIIA2**) se extienden hasta el final del PR1, pero su frecuencia es alta (66,6-100%) desde mediados de abril hasta el final de junio-2007; o sea, estos moluscos maduran durante la **primavera y principios de verano**; **e)** las puestas de la población (**estadio B**) se entrelazan con los estadios de maduración, y se extienden desde marzo-2007 hasta finales de enero-2008, pero en este período existen tres tramos donde la frecuencia de puestas es mayor, que son: **principios de primavera** (marzo-2007), **verano**, (julio-agosto-2007) y **otoño** (finales de septiembre-principios de diciembre-2007); **f)** normalmente no se dan los estadios de reposo ni de restauración, pasando los moluscos desde el estadio B al estadio I del siguiente período reproductivo; **g)** los estadios iniciales de la gametogénesis (**estadios I y II**), correspondientes al segundo período reproductivo (PR2) ocurren durante el **invierno** (enero-2008).

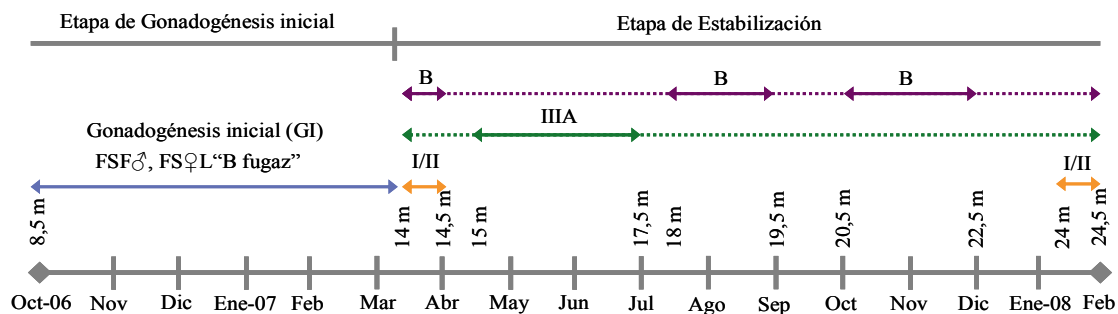


Fig. 4.46. Perfil poblacional de los acontecimientos principales del desarrollo gonadal durante el primer periodo reproductivo (PR1) en animales bisexuales (FSF♂, FS♀L) y en hembras puras de *C. varia*.

Durante el mes octubre de 2006 (los animales tienen una edad de 8,5 meses), correspondiente al primer periodo reproductivo y a la formación de la gónada primaria (G1), en los 2 primeros muestreos realizados se observó un importante porcentaje de zamburriñas (50-83,3%) en “gonadogénesis inicial (GI)”, aunque se debe destacar que ya durante este primer mes se observa una maduración muy rápida de las gónadas mixtas, con fase sexual funcional masculina y fase sexual femenina no funcional o latente (FSF♂, FS♀L). En estas gónadas la fase sexual masculina se está desarrollando para producir gametos, por lo que se la denomina fase sexual funcional (FSF), mientras que la fase sexual femenina aparece únicamente en forma de ovogonias (Ovg) y con escasa presencia de ovocitos previtelogénicos, y se considera fase sexual no funcional o latente (FSL).

A continuación, todavía en la gonadogénesis inicial, el estadio predominante pasó a ser el de “B fugaz” o puesta rápida de la fase sexual masculina de una gónada mixta (FSF♂, FS♀L), y se extendió desde finales de octubre 2006 hasta el 15 de marzo de 2007

(4,5 meses), alcanzando en la mayoría de los muestreos realizados entre estas fechas porcentajes del 100% de los animales. El estadio “B fugaz” consiste en una maduración muy rápida de la fase sexual masculina, produciendo los gametos masculinos y desencadenando rápidamente la puesta, y ocurre en ejemplares con una edad de 8,5-14 meses y una altura media de la concha de 18 mm (Fig. 4.47.).

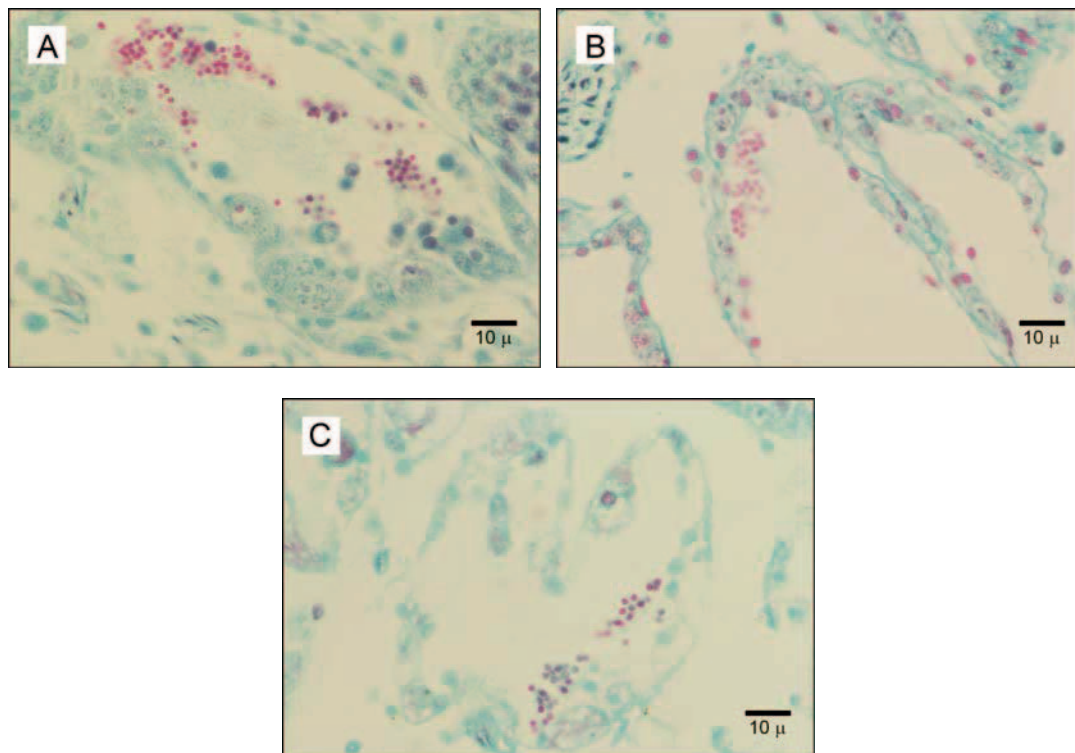


Fig. 4.47. A, B, C. Puesta fugaz de la fase sexual masculina de una gónada mixta en *C. varia*, estadio “B fugaz”. Obsérvese los espermatozoides de la fase sexual masculina, y los ovocitos previtelogénicos de la fase sexual femenina.

En el desarrollo de este estudio, se observó que los estadios “I y II” de la fase sexual masculina en los animales jóvenes son estadios que la zamburiña realiza en un periodo muy corto de tiempo, ya que los porcentajes de estos estadios observados no superaron en ningún caso el 33,3%.

Desde el 15 de marzo de 2007 hasta el 29 de enero del 2008 ocurre la etapa de estabilización del PR1, donde se suceden y entrelazan los estadios de maduración (IIIA) y los de puesta (B).

Como casos excepcionales se observaron: **a)** un individuo que no pudo ser clasificado ni en estadio ni en fase sexual, al no presentar ningún tipo de organización gonadal en diciembre de 2006; individuo que catalogamos como indefinido o indeterminado; **b)** un molusco en estadio “D o de agotamiento del ciclo reproductivo” de la fase sexual funcional de una gónada mixta (FSF♂, FS♀L) a principios de noviembre de 2007.

Durante el mes de enero de 2008 la mayor parte de las zamburiñas continuó en periodo de maduración-puesta (66-83,3%), pero se pudo apreciar un pequeño porcentaje (16,6-33%) que ya se encontraba iniciando la formación de una nueva gónada (G2) correspondiente al segundo período reproductivo (PR2).

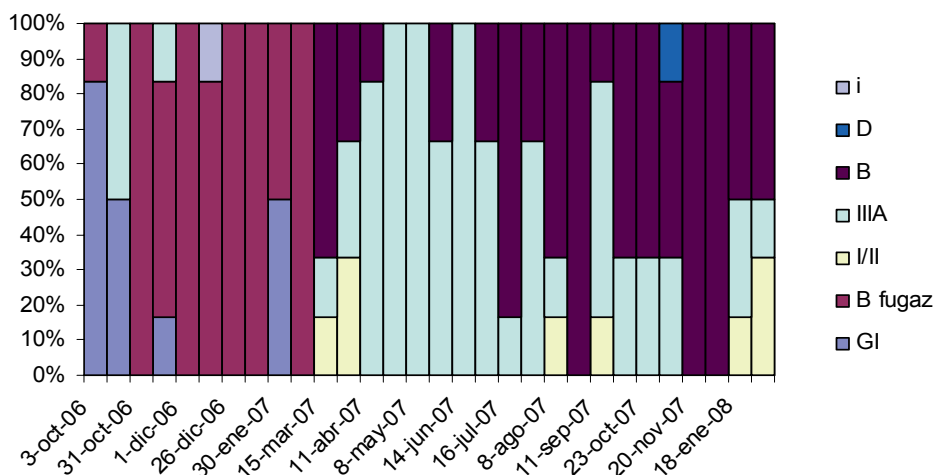


Fig. 4.48. Variación estacional de la proporción de los estadios del ciclo gametogénico en el primer periodo reproductivo (PR1) de *Chlamys varia*.

Temporalidad del ciclo reproductor de *C. varia* durante el segundo periodo reproductivo (PR2)

En la población de *Chlamys varia* estudiada, el segundo periodo reproductivo (**PR2**) corresponde a los pectínidos que desarrollan su segunda gónada (G2), y abarca desde **febrero-2007** hasta mediados de **agosto-2008**, lo que hace un total de **6,5 meses**, pero debemos tener en cuenta que el estudio no abarcó la totalidad de este segundo periodo reproductivo. El **perfil poblacional** del desarrollo gonadal en el tramo estudiado de este periodo reproductivo se muestra en las Figuras 4.49. y 4.50., y es el siguiente: **a)** los moluscos inician este periodo con **24,5 meses** (febrero-2008) y se estudian hasta que tienen **31 meses** (agosto-2008); **b)** como el desarrollo gonadal de estos moluscos no está sincronizado a nivel poblacional, hay un solapamiento de los dos periodos reproductivos (PR1 y PR2); este solapamiento incumbe a las puestas (estadio B) y al inicio de la gametogénesis (estadios I/II). En cuanto a las puestas, al inicio del PR2 ocurren puestas que corresponden al PR1; estas puestas se extienden, con mayor a menor frecuencia (66,6-33,3%) desde febrero hasta abril. En cuanto a la **gametogénesis**, hay animales que la inician al final del PR1 (mediados de enero-2008), y otros lo hacen al principio de lo que hemos denominado PR2 y se extiende desde **febrero** hasta **abril-2008** con una frecuencia del 16%; **c)** los estadios de maduración-madurez (**IIIA1-IIIA2**) se extienden desde **febrero** hasta mediados de **agosto-2008**, siendo mayor su frecuencia (100-83,3%) desde mediados de abril hasta el final de junio-2008; o sea, en el PR2 se confirma que estos moluscos maduran durante la **primavera y principios de verano**; **d)** las puestas (**estadio B**) se extienden desde finales de junio-2008 hasta mediados de agosto-2008 y con una frecuencia de 16,6-50%, o sea, ocurren en **verano**.

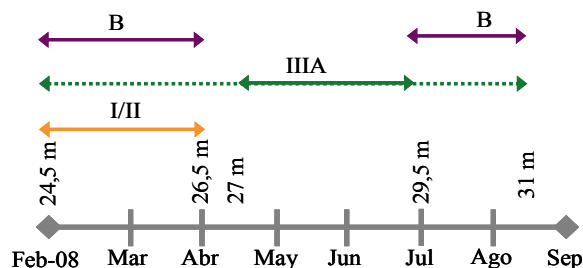


Fig. 4.49. Perfil poblacional de los acontecimientos principales del desarrollo gonadal durante el segundo periodo reproductivo de *C. varia*.

Como caso excepcional en este PR2, se observó un individuo que no fue posible clasificar en estadio ni en clase sexual, al no presentar ningún tipo de organización gonadal.

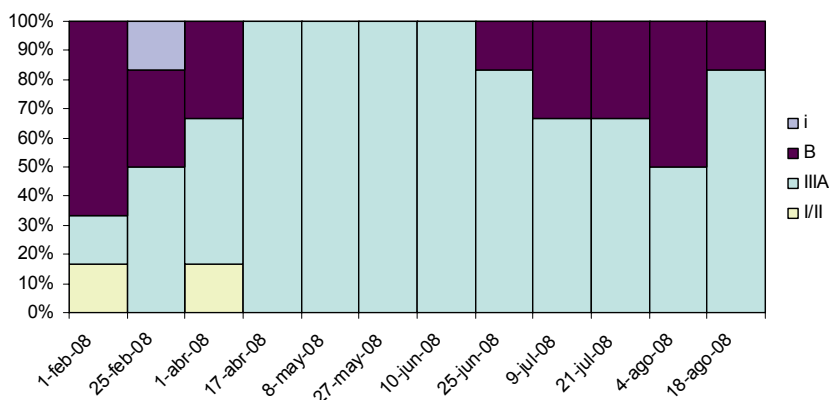


Fig. 4.50. Variación estacional de la proporción de los estadios del ciclo gametogénico en el segundo periodo reproductivo (PR2) de *Chlamys varia*.

En base a los resultados obtenidos, se han extraído las siguientes conclusiones:

1. El desarrollo de la gónada no es uniforme en los individuos de la población, aunque se puede extraer un patrón, que ya se ha descrito más arriba.
2. Durante su PR1, la gónada de *C. varia* hace un desarrollo de la FSF♂ muy rápido, registrándose liberaciones de gametos masculinos maduros ya desde los 8,5 meses de edad y en las estaciones de otoño-invierno (desde octubre de 2006 hasta marzo de 2007).
3. Del mismo modo, los estadios I y II, que dan comienzo al desarrollo gametogénico, se llevan a cabo durante la estación invernal y finalizan a principios de primavera.
4. Desde el mes de abril hasta finales de junio predomina el estadio IIIA o de maduración, coincidiendo con la máxima producción de gónada por la zamburiña.
5. El periodo de puestas es extendido, ocurren a principios de **primavera, verano y otoño**.
6. La mayoría de las puestas son **parciales**, ya que únicamente en un caso se observa el agotamiento total tras la puesta (estadio D), en el mes de noviembre. Por otro lado, las puestas van acompañadas seguidamente de la generación de nuevas cohortes a partir de las gonias, que se mantienen en las paredes foliculares sin pasar por un estadio 0 ó de reposo reproductivo. Se puede decir, por lo tanto, que la zamburiña realiza sucesivas puestas parciales durante su ciclo reproductor.

Primera madurez sexual

1. Se ha observado maduración de la FS♂ en las zamburiñas bisexuales desde los primeros muestreos realizados, con **8-9 meses** de edad y una altura media de la concha de **15 mm**, pero es posible que la maduración comenzase incluso antes. Esta maduración es “**fugaz**”, produciendo los gametos masculinos y desencadenando rápidamente la puesta. Estos animales son bisexuales con FSF♂, y la maduración de esta FS comienza en el PR1 en el mes de octubre de 2006, continuando con puestas hasta marzo de 2007. Estos animales son bisexuales; en ellos, a nivel histológico, están presentes las dos fases sexuales, la FS♂ y la FS♀, pero sólo se desarrolla, madura y produce gametos la FS♂, por ello la denominamos *fase sexual funcional masculina* (FSF♂). La fase sexual femenina (FS♀) tiene escaso desarrollo, sólo está presente a

- nivel de ovogonias y ovocitos previtelogénicos, que no continúan su desarrollo y, en su mayoría, devienen atrésicos, por ello la denominamos *fase sexual femenina latente* (FS♀L) y, también, *fase sexual estructural femenina no funcional*.
2. A los **14 meses** de edad, en el mes de marzo de 2007, comienza en estos animales la maduración de la primera FS♀, surgiendo las **primeras hembras dioicas vitelógicas puras**. Pero no es hasta finales de mayo de 2007 (2,5 meses más tarde), con una edad de **16,5 meses** y una altura media de **25 mm** de la concha, cuando se produce la **primera puesta de hembra pura**. Denominamos a estos animales *hembras puras* porque en su gónada no se observa, a nivel histológico, ningún vestigio de la fase sexual masculina.
 3. En cambio, no hay animales que sean **machos puros**, es decir, que sólo tengan, desarrollen y maduren la fase sexual masculina. Los animales que son machos funcionales desarrollan y maduran la fase sexual masculina, pero, a nivel histológico, siempre se observa en su gónada vestigios de la fase sexual femenina. Esta fase sexual femenina no es funcional, es escasa, se desarrolla poco, y está representada por ovogonias y ovocitos previtelogénicos, que no continúan su desarrollo y, en su mayoría, devienen atrésicos.
 4. Por tanto, los animales bisexuales de *Chlamys varia* presentan dos facetas en el desarrollo de las fases sexuales de su gónada: un aspecto estructural y otro funcional. Denominamos *fase sexual estructural*, a la fase sexual cuyas series gametogénicas no se desarrollan completamente a término, o sea, no maduran y, por tanto, no producen gametos. Y llamamos *fase sexual funcional*, a la fase sexual cuyas series gametogénicas se desarrollan completamente a término, o sea, maduran y, por tanto, producen gametos. *La fase sexual masculina, si está presente, siempre es funcional. La fase sexual femenina puede ser estructural o funcional*; si es *estructural* sus series gametogénicas son escasas, y en su desarrollo sólo producen ovogonias y, como máximo, ovocitos previtelogénicos que, mayormente, devienen atrésicos; si es *funcional*, sus series gametogénicas son numerosas, se desarrollan completamente y producen ovocitos postvitelogénicos y con madurez meiótica, o sea, producen gametos maduros.
 5. Según esto, la población de *Chlamys varia* estudiada presenta los siguientes tipos de animales en cuanto al desarrollo de las fases sexuales de su gónada: **a)** animales con fase sexual masculina funcional y fase sexual femenina estructural, que también hemos denominado *latente*; estos animales son *machos funcionales*, y los hemos tipificado como animales con FSF♂, FS♀L (fase sexual masculina *funcional*, fase sexual femenina *latente*). Todos los animales con FSF♂ siempre tienen una fase sexual femenina estructural o latente, o sea, no hay animales que sólo tengan una fase sexual masculina, es decir, no hay animales que sean *machos puros*; **b)** animales con fase sexual femenina funcional y que no tienen fase sexual masculina estructural o latente; estos animales son *hembras puras*, y los hemos tipificado como animales con FS♀ (fase sexual femenina); **c)** No se han observado animales que sean *hembras funcionales*, en el sentido de que tengan una fase sexual femenina funcional y una fase sexual masculina estructural o latente.
 6. En los animales que son bisexuales, en ningún momento se ha observado la maduración simultánea -con el mismo grado de madurez- de las fases sexuales masculina y femenina. Cuando las dos fases sexuales están presentes en el animal, siempre madura primero la fase sexual masculina, y la fase sexual femenina no madura. En el caso de que la fase sexual femenina madure, lo hace después de la fase sexual masculina, y es entonces cuando ocurre el cambio de sexo desde un animal que es bisexual (FSF♂, FS♀L) al mismo animal que pasa a ser hembra pura (FS♀).

4.3.4 Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo

Debido a la dificultad de determinar el sexo en la gónada de *Chlamys varia* mediante la observación macroscópica, en este estudio fueron examinados histológicamente seis animales de manera periódica (quincenalmente) durante los 31 primeros (2 años y 7 meses) de vida de los animales, con el fin de determinar de forma precisa sus fases sexuales, así como el proceso, causas y secuencia en los cambios de sexo de estos moluscos.

La zamburiña ya mostró gónada primaria (G1) en desarrollo al realizar el primer muestreo. Durante el PR1 un **65%** de los ejemplares son **bisexuales** (gónada mixta) y, además, **intersexuales** (Fig. 4.51.) porque las dos fases sexuales están presentes en un mismo folículo. En estas zamburiñas, la fase sexual funcional siempre es la masculina y las series gametogénicas femeninas no pasan de ovocitos previtelogénicos (Ovp), que en su mayoría abortan, por lo que las denominamos como zamburiñas bisexuales con FSF♂ y FS♀L (fase sexual funcional masculina y fase sexual femenina latente). Macroscópicamente, sin embargo, son zamburiñas que aparentan ser machos y sólo puede apreciarse la bisexualidad mediante microscopía.

En los animales bisexuales en G1 y PR1 se observa una variación cuantitativa en la dotación de las series gametogénicas masculina y femenina (SSG♂ y SSG♀) en la gónada. Aunque el animal es un ♂ **funcional**, la FS♀ no es totalmente latente, únicamente está retrasada con respecto a la FS♂ y lo más frecuente es que la dotación de las SSG♂ sea mayor que la dotación de las SSG♀.

Cuando en una gónada surge una fase sexual, en principio se debe desarrollar completamente en sus series gametogénicas, producir gametos y hacer la puesta, pero no siempre es así. Se ha comprobado que en los animales jóvenes en G1, la primera FS que surge puede ser 1ªFS♂ o 1ªFS♀, o ambas. Estas 1ªFS se desarrollan de forma independiente en cuanto surgen las células fundadoras de ambas series, las Spg1 y las Ovg, respectivamente. Sin embargo, las SSG♂ se desarrollan de manera fugaz, producen gametos, evacúan y se agotan, mientras que las SSG♀ se desarrollan más lentamente quedando a nivel de Ovp. Además, el desarrollo fugaz de las SSG♂ se hace más notable cuando su dotación es baja.

En la zamburiña no hemos observado animales **dioicos** ♂, es decir, no hay sexo dioico masculino, o sea, no hay individuos que sean machos puros. Los machos siempre son bisexuales, pero tienen FSF♂ y FS♀L. Sin embargo, sí hay **sexo dioico** ♀ y, por lo tanto, hembras puras, que en el PR1 representan un **30%** del total de las zamburiñas (Fig. 4.51.). Estas zamburiñas sólo son hembras y no tienen ningún atisbo de la FS♂. Ya son ♀ cuando hacen la gónada primaria (G1), siguen siendo ♀ en G2, G3... y probablemente durante toda su vida.

Además, aparece un número muy reducido de gónadas indeterminadas (1%), que fueron imposibles de clasificar sexualmente mediante microscopía óptica al no presentar ningún tipo de organización gonadal.

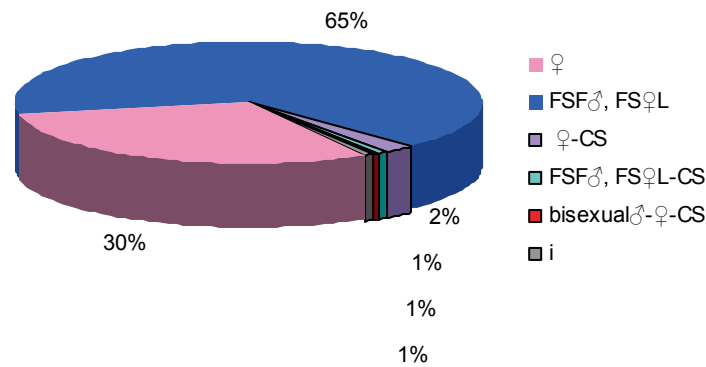


Fig. 4.51. Representación gráfica del porcentaje de las *clases sexuales* en *Chlamys varia* en el primer periodo reproductivo (PR1) de un animal juvenil. ♀-CS: cambio de sexo desde FSF♂, FSF♀L a ♀ pura con mayor cantidad de FSF♀. FSF♂, FSF♀L-CS: cambio de sexo desde FSF♂, FSF♀L a ♀ pura con mayor cantidad todavía de FSF♂. Bisexual♂-♀-CS: cambio de sexo desde FSF♂, FSF♀L a ♀ pura con cantidades semejantes de FSF♂ y FSF♀L.

Como se puede ver en la Fig. 4.51., es importante señalar que ya desde el primer periodo reproductivo se puede observar el proceso de cambio de sexo (CS), afectando al 4% de las gónadas de zamburiña.

El **cambio de sexo** únicamente ocurre desde la **FSF♂ hacia la FSF♀**. En algún momento del curso de su vida, durante el desarrollo de sus sucesivas gónadas, el animal cambia de FSF♂ a FSF♀; en este cambio, la FS♂ desaparece totalmente de la gónada y el animal pasa a ser una ♀ **dioica** sin atisbos de FS♂ en las sucesivas gónadas que produce, y quizás durante el resto de su vida.

El cambio de sexo lo hacen los animales bisexuales que son machos funcionales, o sea, que tienen FSF♂ y FSF♀L, y ocurre a continuación de la puesta de la FSF♂; es decir, si en las sucesivas gónadas, y cohortes dentro de cada gónada, que hizo el animal, la zamburiña fue bisexual, con FSF♂ y FSF♀L, ahora la FSF♂ hace la puesta y es sustituida por la FSF♀, que se desarrolla y pasa a ser funcional (FSF♀). Esto se observa y diagnostica porque: **a)** aparecen numerosas proliferaciones clonales de ovogonias y, además, con procesos meióticos en su interior, o sea, se producen numerosos ovocitos primarios; **b)** se producen cuantiosos ovocitos previtelogénicos, ya frenados en la meiosis y con aspecto de vitalidad funcional. Realmente, no es un cambio de sexo de ♂ a ♀, sino una **sucesión de fases sexuales funcionales** (FSF♂ ⇒ FSF♀), porque las 2 fases sexuales estaban ya presentes desde el principio de la formación de la gónada, ya que el animal nunca fue un ♂ puro, sino un bisexual. Es, pues, un cambio desde un bisexual con FSF♂ a una ♀ dioica, por lo que el animal pasa de expresar los 2 sexos a expresar sólo 1 sexo, y se pierde el sexo ♂. El cambio de sexo se produce cuando la FSF♀ se estabiliza como FSF♀ y no retorna la FS♂. Los primeros cambios de sexo aparecen en la población en **marzo-abril-2007** cuando los animales tienen **14-15 meses** de edad.

En el estudio realizado: **a)** Sólo se ha observado cambio de sexo en una dirección, que va desde una animal bisexual con *fase sexual funcional masculina* y *fase sexual femenina latente* (FSF♂, FSF♀L) a un animal que sólo tiene *fase sexual femenina*, o sea, es una *hembra dioica*, o *hembra pura*; **b)** No se ha observado cambio de sexo desde ♀ **pura** a ♂ **puro**, ni a **macho funcional** (FSF♂, FSF♀L); **c)** Tampoco se ha visto que los animales que son **hembra pura** desarrollen fase sexual masculina, aunque sea latente (no funcio-

nal), ya fueran tales hembras puras hembras en origen (desde siempre), o hembras procedentes de un cambio de sexo.

El proceso de cambio de sexo se realiza de forma gradual, por este motivo se puede determinar histológicamente en base a la progresión de cada una de las fases sexuales en la gónada, observándose varias situaciones en el desarrollo del cambio de sexo, situaciones que se marcan como **a-c** en las Figuras 4.52. y 4.53. Al inicio de un cambio, se podrá observar (situación **a**) la FS♂ en estadio B y la FS♀ en estadios II-III. Posteriormente, la FS♂ pasará a un estadio B avanzado y la FS♀ a un estadio IIIA1 (situación **b**). A continuación se producirá la situación **c**), en la que la FS♂ presenta Spz residuales y la FS♀ está en IIIA1-III A2. Para estudiar el inicio del desarrollo de la FS♀ durante un cambio de sexo es necesario observar detenidamente los folículos subepiteliales periféricos, así como los situados alrededor del intestino, ya que son las zonas donde comienza la formación de los nuevos folículos.

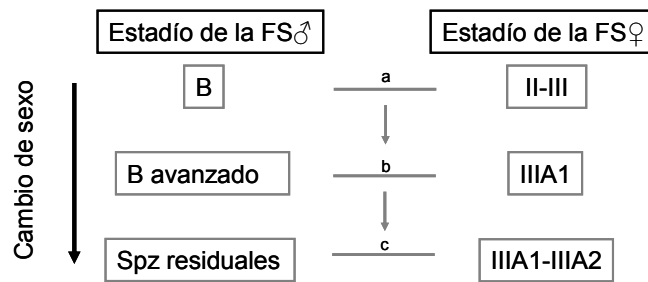
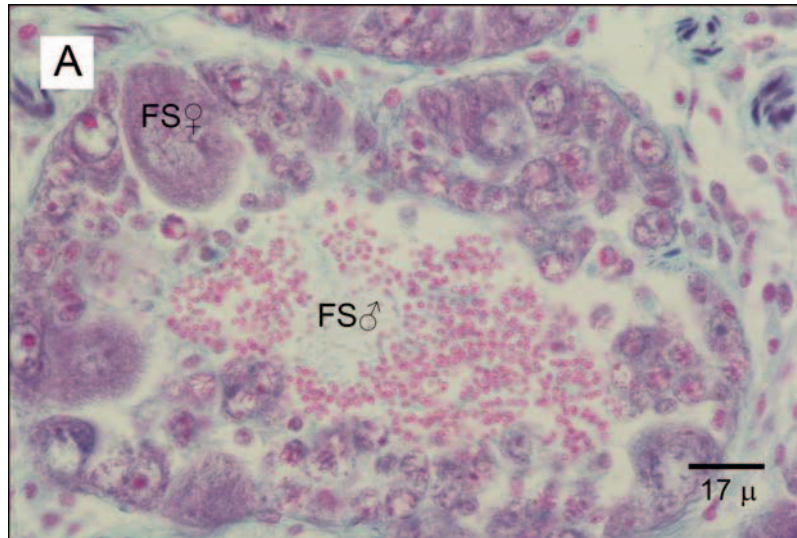


Fig. 4.52. Esquema que ilustra la progresión del proceso de cambio de sexo.



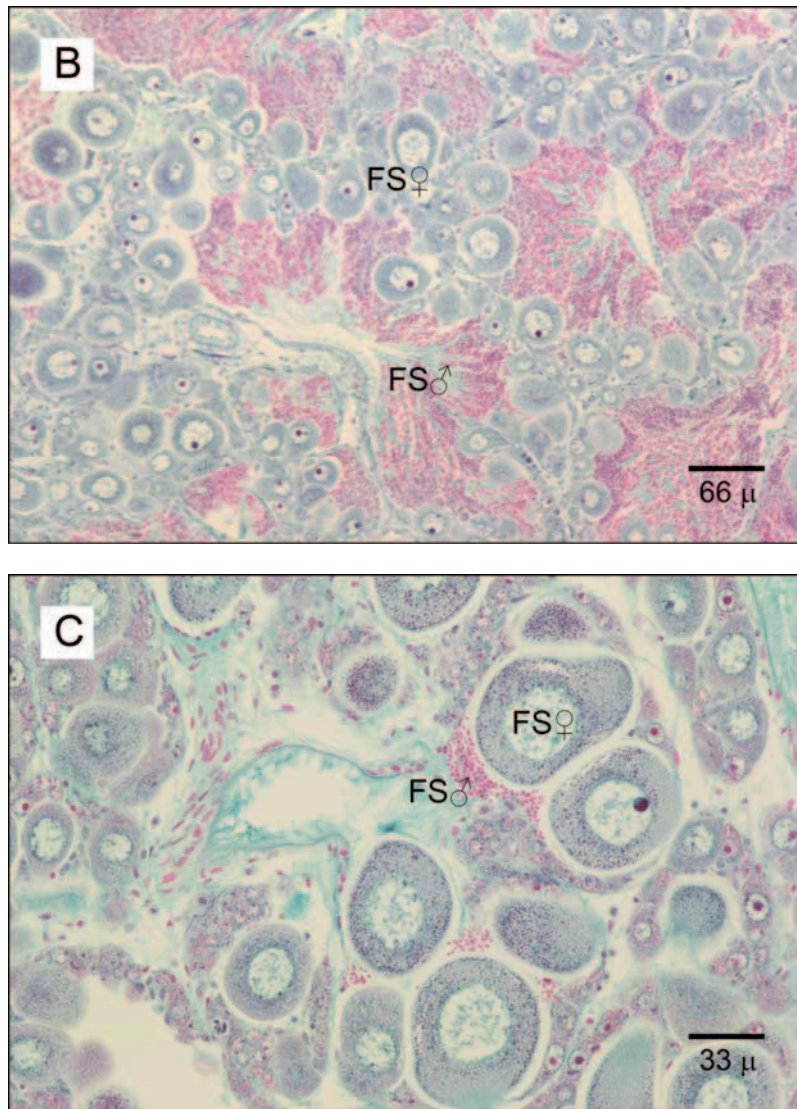


Fig. 4.53. Cambio de sexo en *C. varia*. A) Situación a; B) Situación b; C) Situación c. FS♂: fase sexual masculina. FS♀: fase sexual femenina.

El cambio de sexo lo realiza siempre un animal que es **bisexual e intersexual** y que tiene fase sexual masculina funcional y fase sexual femenina latente o estructural (FSF♂, FS♀L). Este cambio se inicia, y se desarrolla, respectivamente, en el momento y a partir de la puesta de la fase sexual masculina funcional (FSF♂). Cuando el animal está haciendo la puesta de la FSF♂, desarrolla la FS♀ que estaba latente, el animal evacua los espermatozoides y queda sólo la FS♀ que continua su desarrollo; y no permanece ningún resto de FSF♂ ni tampoco el animal desarrolla esta fase “ex novo” posteriormente.

En un reducido número de bisexuales en cambio de sexo (1%), se ha observado un grado de desarrollo próximo de la FS♂ y la FS♀. Ocurre en aquellos animales en los que la FS♂ es la funcional y la FS♀ no está del todo latente, sino que es abundante y los Ovp continúan su desarrollo y hacen vitelogénesis independientemente del estado de desarrollo en que se encuentre la FS♂. Por lo tanto, la FS♂ está más avanzada en desarrollo que la FS♀ y es la funcional, pero la FS♀ continúa su desarrollo, aunque vaya por detrás de la FS♂. A estos animales los denominamos **bisexuales♂-♀**.

En conclusión, en las zamburiñas bisexuales la FS♂ y la FS♀ se desarrollan independientemente. Lo que ocurre es que la FS♀ se detiene en su proceso de desarrollo, y la explicación podría residir en que el animal, como organismo, todavía no ha desarrollado, o tiene inhibida, la capacidad de realizar vitelogénesis. Así, si el animal no desarrolla la capacidad o si teniéndola no la ejecuta, los Ovp no progresan y mueren. Sin embargo, si progresa la vitelogénesis se observa un grado de desarrollo próximo de la FS♂ y la FS♀ y, por lo tanto, una reactivación ovocitaria anterior a la puesta como ♂.

En peces, anfibios y aves, la producción de vitelo (vitelogénesis) por los ovocitos precisa de las proteínas denominadas **vitelinas**, que son acumuladas por los ovocitos a partir de una proteína precursora: la **vitelogenina**. En estos animales, la vitelogenina es producida por el hígado y está bajo control hormonal y, por tanto, es una proteína extra-ovocitaria que tiene que producir el animal para que los ovocitos puedan hacer vitelogénesis (Valle, 1993). Parece que aún no hay estudios acerca de la producción, y lugar anatómico de producción, de vitelogenina en *Chlamys varia*. Y escasos son los estudios sobre la producción de vitelogenina por moluscos bivalvos: Osada *et al.* (2003) han demostrado la producción de vitelogenina en el ovario del pectínido *Patinopecten yesoensis*. En el caso, posible, de que *Chlamys varia* produjese vitelogenina, podría ocurrir que durante la ontogenia del animal, la capacidad de producir la FS♀ y, por tanto, la producción de ovocitos, la desarrollase el animal antes que la capacidad de producir vitelogenina; por ello, **el desarrollo de la FS♀ se retrasa con respecto al desarrollo de la FS♂**. En aquellos animales adultos de más edad que continúan siendo machos funcionales pero tienen una fase sexual hembra latente (FSF♂, FS♀L), el hecho de que no desarrollen la FS♀ podría deberse a que no tienen la capacidad de producir vitelogenina. En ambos casos, la capacidad de producir vitelogenina por *Chlamys varia* podría ser un factor clave para: **a)** desarrollar a término la FS♀; **b)** desarrollar y sostener el cambio de sexo, una vez iniciado, desde un animal (FSF♂, FS♀L) a un animal que sólo tenga FS♀.

En el desarrollo de la G2 y, por lo tanto en el **PR2**, los porcentajes de las clases sexuales varían considerablemente, llegando a igualarse el porcentaje de animales que son ♀ **puras (49%)** al de animales que son **FSF♂, FS♀L (49%)**, debido a los cambios de sexo que han tenido lugar durante el desarrollo de las diferentes cohortes del PR1 (Fig. 4.54.).

Además, puede observarse un ligero descenso en el porcentaje de zamburiñas en cambio de sexo en el PR2 (1%) con respecto al PR1 (4%). Sin embargo, se debe tener en cuenta que este estudio no abarcó la totalidad de este PR2, con lo que es posible que se mantenga el porcentaje de animales en cambio de sexo durante el segundo periodo reproductivo.

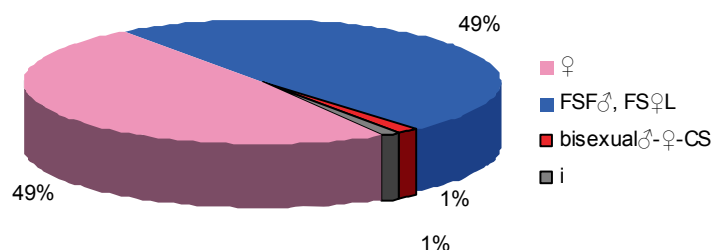


Fig. 4.54. Representación gráfica del porcentaje de las fases sexuales en la población de *Chlamys varia* durante el segundo periodo reproductivo (PR2). Bisexual♂-♀-CS: Cambio de sexo desde FSF♂, FS♀L a ♀ pura con cantidades semejantes de FSF♂ y FS♀L.

Durante el estudio se determinó que la zamburiña desarrolla la capacidad de hacer **vitelogénesis** a los **14 meses de edad** (marzo), con una altura media de la concha de **21 mm**. Sin embargo, se debe resaltar la diferencia entre tener la capacidad vitelogénica y ejecutar dicha capacidad, ya que sin la capacidad no se puede ejecutar la vitelogénesis, pero teniéndola, su ejecución puede ser constitutiva (siempre activa) o puede estar regulada.

También, a partir de esa misma edad y talla, pueden comenzar a ocurrir los cambios de sexo de bisexual, con FSF♂ y FS♀L, a ♀ dioica pura. El cambio de sexo ocurre durante la puesta de la FSF♂, cuando se agota totalmente dicha FS en la producción de Spz. En esta situación, la FS♀ que estaba “latente” manifiesta una reactivación muy fuerte, observándose abundantes proliferaciones clonales. Tras las proliferaciones clonales de las ovogonias surgen los ovocitos previtelogénicos, que continúan el proceso de vitelogénesis. La vitelogénesis ocurre de modo uniforme en toda la gónada y no se observan abortos, atresias ni muerte de ovocitos previtelogénicos, por lo que parece que la **vitelogénesis estabiliza el proceso de cambio de sexo**.

Tras haber analizado los cortes histológicos de las gónadas de zamburiña cultivada en las rías gallegas desde el comienzo de la historia de vida del animal y de la población, se puede describir la historia gonado-sexual de los animales y de la población del siguiente modo (Fig. 4.55.):

1. La zamburiña desarrolla la gónada primaria (G1), desde el comienzo del estudio, como juvenil. Durante el desarrollo de esta G1, correspondiente al PR1, pueden formarse varias cohortes de células germinales. La primera cohorte (C1) puede ser mixta o bisexual (C1m), es decir con presencia de ambas FSs, masculina y femenina; o bien puede ser una C1 femenina (C1♀). O sea, en la población pueden concurrir dos situaciones con los animales que hacen su primera gónada: que haya animales bisexuales (FSF♂, FS♀L) y que también haya animales que sean ♀ dioica pura (Fig. 4.55.A).

2. Caso de los animales bisexuales en primera gónada (Fig. 4.55.A). Estos animales hacen la primera cohorte de células germinales, que es mixta (C1m), y esta cohorte desarrolla sus series gametogénicas (SSG) y realiza la puesta como ♂. A continuación, pueden ocurrir 2 posibles situaciones: que continúe el desarrollo de una segunda cohorte

mixta (C2m) o que finalice el desarrollo de la G1, pasando a desarrollarse una G2 con un tamaño mucho mayor. En el caso de continuar con el desarrollo de otra cohorte mixta (C2m), se repetirá esta situación tras realizar la puesta, pero puede producirse un cambio de sexo de C2m a C3♀. O sea, el animal en gónada primaria (G1) puede producir varias cohortes de gónada mixta con las puestas correspondientes de la FSF♂, pero a partir de la puesta de la segunda cohorte, el animal (si ya tiene capacidad vitelogénica) puede hacer cambio de sexo a ♀ dioica pura. Una vez que el animal ha realizado el cambio de sexo a ♀ dioica pura, realiza la puesta como tal, y las sucesivas cohortes que produce son siempre de hembra.

3. Caso de los animales que son hembras puras dioicas en primera gónada (Fig. 4.55.A). Estos animales hacen la primera cohorte de células germinales como hembra pura (C1♀), y esta cohorte desarrolla sus SSG más lentamente; cuando adquiere la capacidad vitelogénica acelera la maduración de las SSG y realiza la puesta como ♀. A continuación, pueden ocurrir 2 situaciones: que continúe el desarrollo de una segunda cohorte ♀ (C2♀) (Fig. 4.55.A), o bien que finalice el desarrollo de la G1, pasando a desarrollarse una G2. En cualquiera de estas dos situaciones continuará siendo una ♀ en sucesivas cohortes, gónadas y, como ya se ha comentado, quizás el resto de su vida (Fig. 4.56.).

Durante el desarrollo de sucesivas gónadas (Gn) la historia gonado-sexual de la zamburriña será semejante a la descrita (Fig. 4.55.B), a excepción de que cuando el animal adquiere la capacidad vitelogénica, por un lado las C ♀ desarrollarán sus SSG con mayor rapidez, y por otro, los cambios de sexo (CS) podrán comenzar a producirse desde la adquisición de dicha capacidad vitelogénica. Por lo tanto, se puede concluir que la posibilidad de realizar un cambio de sexo en *C. varia* coincide en el tiempo con la adquisición de la capacidad vitelogénica y sugiere su dependencia.

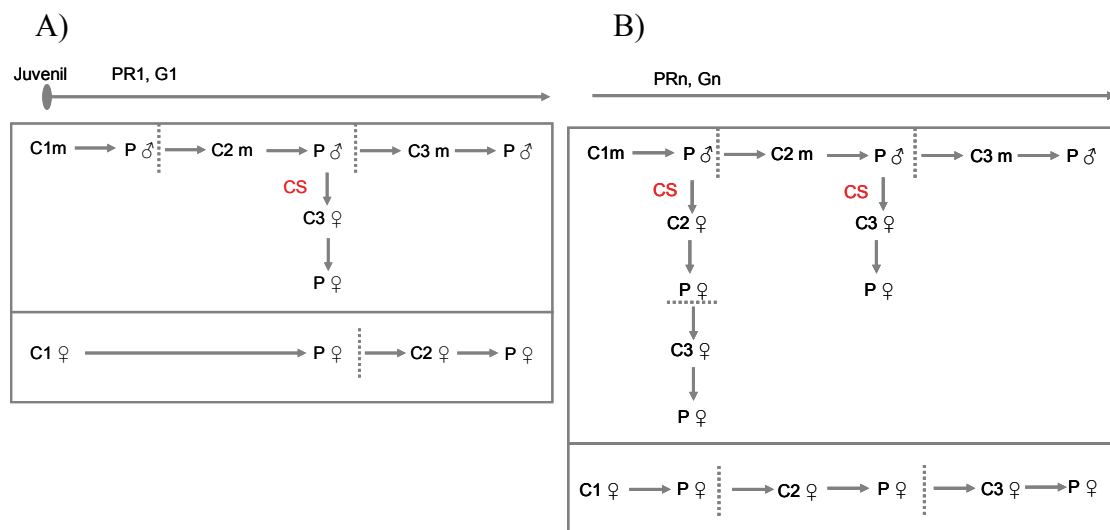


Fig. 4.55. Esquema que visualiza la historia gonado-sexual de *Chlamys varia* desde que hace su primera gónada. A): durante el primer periodo reproductivo; B): durante posteriores periodos reproductivos. C: Cohorte; P: puesta; CS: cambio de sexo; m: gónada mixta o bisexual.

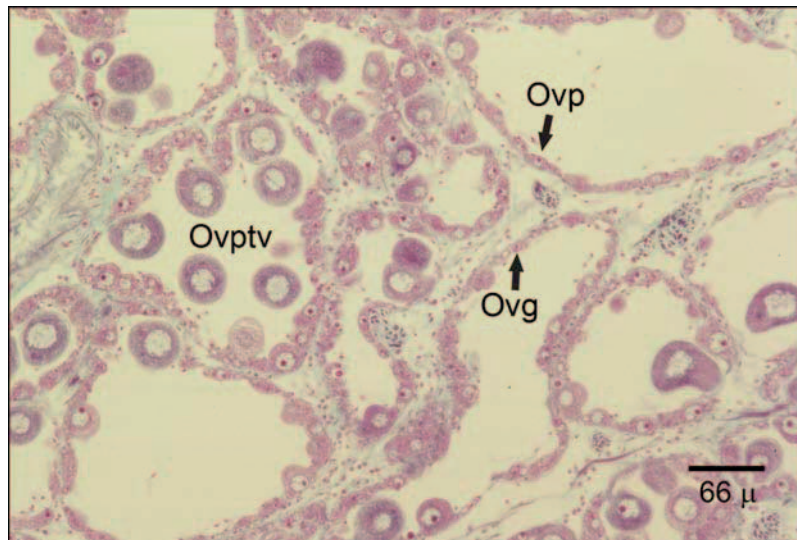


Fig. 4.56. Puesta de la FS♀ y desarrollo de una segunda cohorte femenina. Esta situación ocurre en un animal que es hembra pura. Ovptv: ovocito postvitelogénico, Ovg: ovogonia, Ovp: ovocito previtelogénico.

Tras haber estudiado, y seguido, la aparición de las fases sexuales y los cambios de sexo en la población de zamburiñas objeto de esta investigación, desde que los moluscos hacen su primera gónada, podemos decir que en los animales de esta población están presentes las siguientes clases o tipos sexuales:

- a) **Animales bisexuales con fase sexual macho funcional.** Estos animales presentan una FS♂ que madura y es funcional, y una FS♀ que es latente y no madura. Estos animales se comportan como machos, y catalogamos su clase sexual como: (FSF♂, FS♀L). Estos animales son los que pueden hacer el cambio de sexo a **hembra pura**.
- b) **Animales que son hembras puras.** Estos animales son hembras puras dioicas. Sólo tienen FS♀, y catalogamos su clase sexual como: ♀ pura. Estos animales no cambian de sexo.
- c) **Animales bisexuales macho-hembra.** Estos animales presentan una FS♂ y una FS♀. Ambas fases sexuales tienen un grado de desarrollo sexual semejante, aunque predomina el desarrollo de la FS♂. Catalogamos a estos animales como pertenecientes a la clase sexual: bisexual♂-♀. La frecuencia de estos animales en la población es del 1%.

Conociendo la historia gonado-sexual de *C. varia*, se deduce, por un lado, que el suministro de ovocitos en la población lo realizan: **(a)** las hembras dioicas que lo son desde el principio de la producción de gónada por el animal, y que continúan siéndolo durante toda su vida, o bien **(b)** las hembras dioicas que surgen en un cambio de sexo y a partir de éste continúan siéndolo durante toda su vida; y por otro lado, que el suministro de espermatozoides en la población lo realizan únicamente las zamburiñas bisexuales con FSF♂ (Fig. 4.57.).

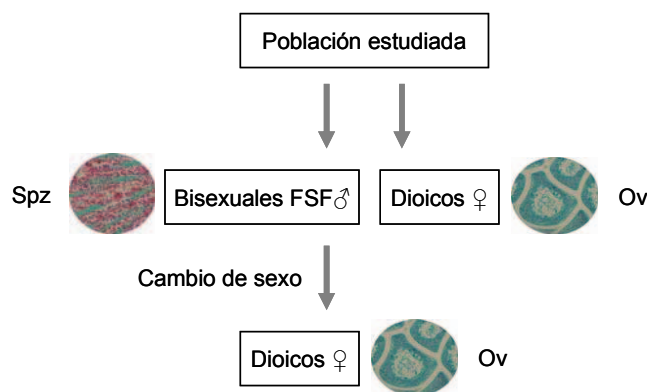


Fig. 4.57. Representación gráfica del suministro de espermatozoides y de ovocitos en la población de *Chlamys varia* estudiada.

Según estos resultados, es importante señalar que es necesario redefinir el concepto de protandria para el caso de la zamburiña. Un animal protándrico es el que en G1 realiza la puesta como ♂ y posteriormente realiza un cambio de sexo a ♀. Sin embargo, *C. varia* es un animal protándrico, en el que, iniciándose la G1 como una gónada mixta en la que comienzan a desarrollarse a la vez las dos FS, la FS♀ no llega a la madurez, madurando únicamente la FS♂, que produce los espermatozoides y realiza la primera puesta como ♂. Acorde a estos razonamientos, se debe aplicar el concepto de protandria no en cuanto al inicio del desarrollo de la G1, sino aplicándolo a la maduración de la G1. **Por lo tanto, sería protándrico el animal que en la G1 madura y realiza la primera puesta como ♂.** Además, en el concepto vigente de protandria, el animal inicia su historia de vida con una gónada que sólo tiene fase sexual masculina y no tiene fase sexual femenina, y posteriormente cambia de sexo desarrollando una gónada femenina y que no tiene fase sexual masculina. Este no es el caso de *Chlamys varia*, porque en esta especie, según los resultados expuestos:

- Los animales que son protándricos tienen las dos fases sexuales, masculina y femenina, lo que ocurre es que la fase sexual masculina se desarrolla y la femenina no lo hace.
- Hay animales que son hembras dioicas puras.

Por otro lado, el cambio de sexo en la zamburiña no es un cambio de sexo en sentido estricto, sino una sucesión de fases sexuales. La sucesión consiste en el desarrollo de una fase sexual masculina funcional (FSF♂) hasta la madurez, con la presencia simultánea, en la gónada, de la fase sexual femenina latente (FS♀L); y tras la puesta de la FSF♂, esta fase sexual es sucedida y reemplazada por la FS♀, que antes permanecía latente, hasta alcanzar la madurez.

4.3.5 Tejido de reserva

Se ha observado histológicamente una línea celular somática e interfolicular muy interesante, que está asociada a las células germinales y se encuentra presente tanto en las gónadas mixtas como en las gónadas femeninas. Esta línea somática está constituida por las **células vesiculares** (VC), que son células que adquieren poca coloración en tinción tricrómica, son verdosas, globosas, con inclusiones citoplasmáticas marrón brillante, de gran tamaño ($10,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$ de diámetro) y muy abundantes. Poseen un núcleo rosa-

azulado de $3,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$ de diámetro, que a menudo es excéntrico, su relación N/C es de $0,3 \pm 0,02 \mu\text{m}$ y contienen un nucleolo de $1,08 \pm 0,1 \mu\text{m}$ de diámetro. Son células poli-mórficas, que cuando son jóvenes son redondeadas, y a medida que se desarrollan su forma es bastante irregular. Al degradarse, se vuelven a redondear y se vacuolizan, especialmente alrededor del núcleo, donde aparecen estructuras citoplasmáticas circulares grandes y sin coloración rodeando al núcleo (Fig. 4.58. y Fig. 4.59.).

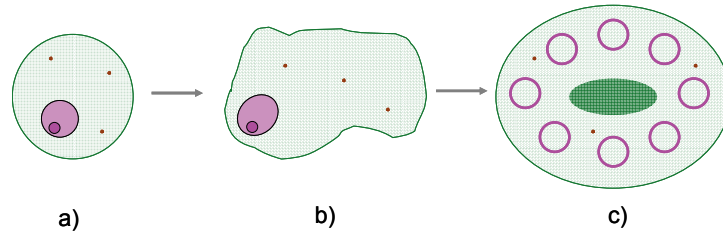
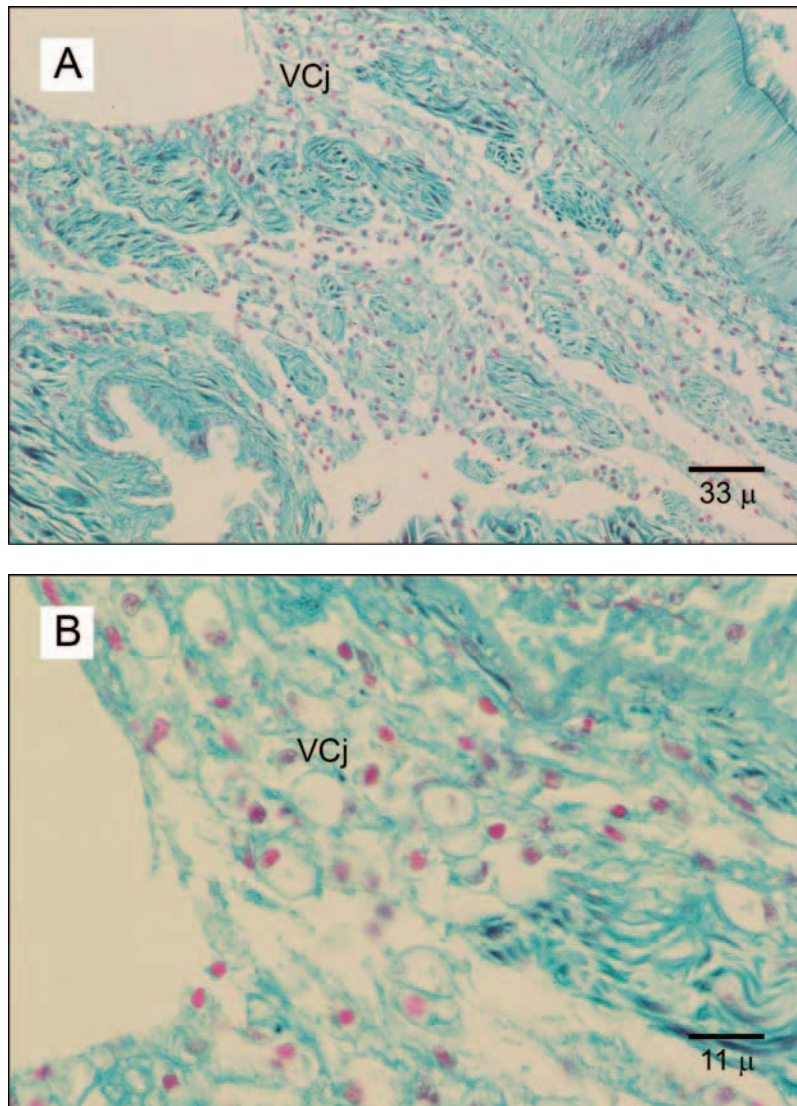


Fig. 4.58. Secuencia de la evolución de las células vesiculares: a) VC joven redonda; b) VC asimétrica; c) VC en degradación, vacuolizada; obsérvense las estructuras citoplasmáticas circulares.



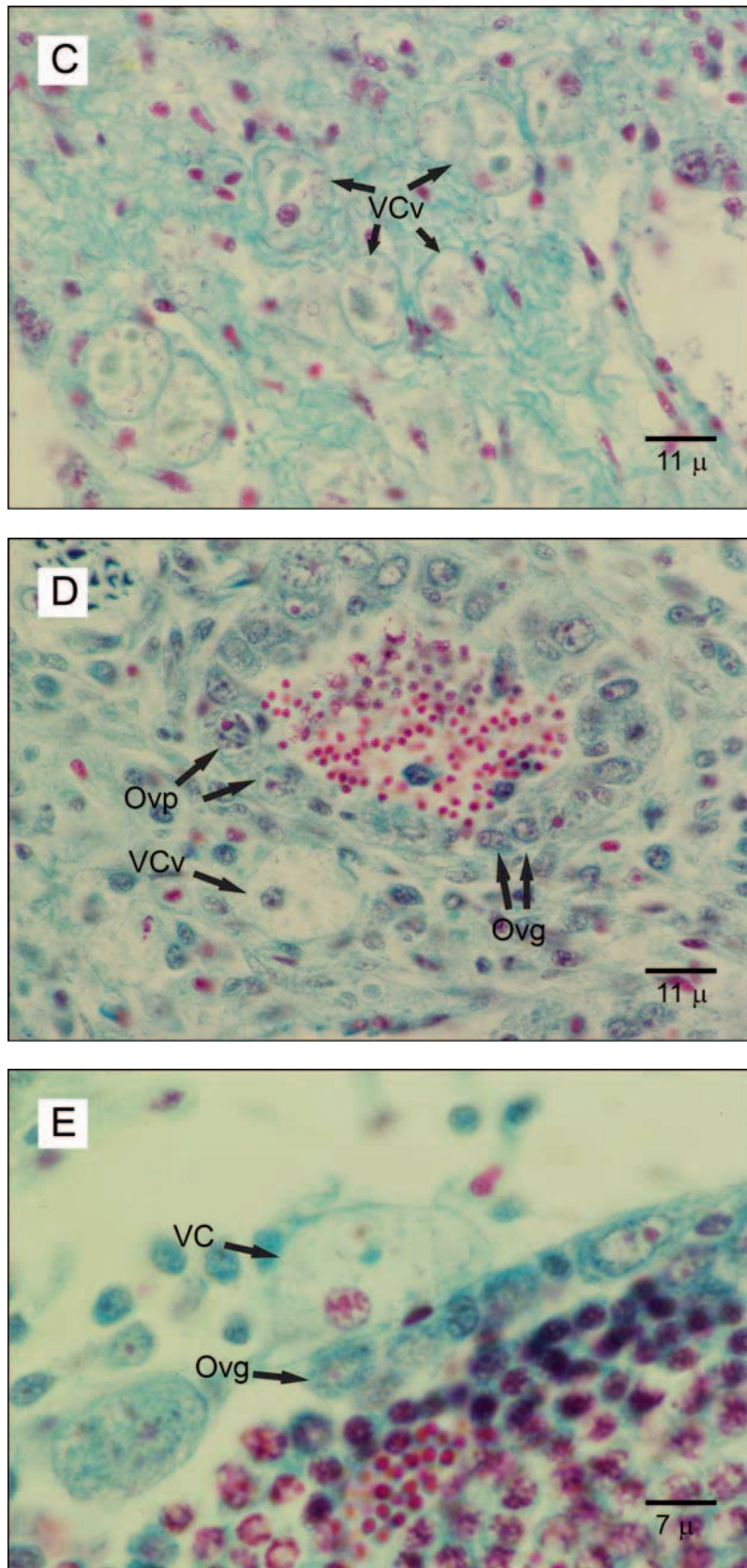


Fig. 4.59. Células vesiculares en el tejido conjuntivo de *C. varia*. A), B) Células vesiculares jóvenes. C), D) Células vesiculares viejas. E) Célula vesicular vieja adosada, por la parte exterior, a la pared folicular de un folículo gonadal. VC: célula vesicular; VCj: célula vesicular joven; VCv: célula vesicular vieja; Ovg: ovogonia; Ovp: ovócito previtelogénico.

Estas células son frecuentes en el tejido conjuntivo de la gónada de la zamburiña, y se ubican principalmente en la región subepitelial del aparato digestivo, donde pueden aparecer adosadas a los gonoductos y a la pared de los folículos gonadales. Se observó bastante cantidad de estas células en los animales juveniles cuando desarrollan su primera gónada. Por los colores con los que se tiñen estas células con la tinción tricrómica y por su abundancia en el conjuntivo en determinados etapas que requieren elevado suministro energético (por ejemplo, durante la gametogénesis), estas VC son probablemente células de reserva energética almacenadoras de glucógeno, y su función podría ser nutritiva, aportando energía durante el desarrollo gametogénico. Estas células son muy semejantes, por sus características citológicas, por su ubicación en el tejido conjuntivo y por su evolución celular, a las células vesiculares que tienen otros moluscos bivalvos, a saber: *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis* y *Crassostrea gigas*, así como los venéridos *Ruditapes decussatus*, *Venerupis pullastra* y *Ruditapes philippinarum*. En estos moluscos está demostrado que sus células vesiculares movilizan glucógeno, en el sentido de que lo sintetizan, almacenan e hidrolizan.

4.4 Discusión

4.4.1 Gonadogénesis

4.4.1.1 Origen de la gónada y de las células germinales

Desde que August Weismann (1880-82, 1904) hizo una clara distinción entre **soma** y **plasma germinal**, e introdujo el concepto de la singularidad y la continuidad de lo que denominó “el plasma germinal”, el estudio del origen y la especificación de las **células germinales** en invertebrados y en vertebrados ha sido siempre, y actualmente lo es, un tema de investigación activa. Esta investigación ha producido trabajos y revisiones bibliográficas importantes, pero también ha generado bastante confusión conceptual y terminológica, porque de unas investigaciones a otras se han trasladado conceptos e hipótesis procedentes de estudios realizados en moluscos, anélidos, insectos y vertebrados, y que no siempre van en la misma dirección. Digamos que, aunque hay conceptos que pueden ser comunes y trasladables, la realidad es que la embriogénesis y la determinación de las células germinales en estos grupos de animales manifiesta diferencias importantes (Extavour & Akam, 2003, revisión). Si, además, se combina el estudio del origen y la especificación de las células germinales con el hecho de que existen organismos animales dioicos y hermafroditas, la confusión y la desorientación a la hora de estudiar el origen y la determinación de estas células es todavía mayor.

Varios estudios señalan que el origen de las células germinales en los moluscos se encuentra en las células germinales primordiales o “primordial germ cells” (PGC), que surgen durante la embriogénesis del animal (Okada, 1939; Lucas, 1965; Allarakh, 1979). Éstas se describen como células germinales bipotenciales que pueden diferenciarse en los gametos de ambos sexos y que se separan de las demás líneas celulares en una fase muy temprana de la vida embrionaria, antes de la gastrulación. Además, la mayoría de los estudios localizan su origen a partir del mesodermo primordial de los moluscos (Pelsenner, 1895; Lucas, 1965; Raven, 1966; Wada, 1968; Sastry, 1979; Allarakh, 1979).

En cambio, Farris H. Woods (1931), al estudiar la embriogénesis de las células germinales en el molusco bivalvo hermafrodita -de agua dulce- *Sphaerium striatinum*, establece claramente que sus líneas germinales **masculina** y **femenina** se originan durante la embriogénesis temprana del animal formando **dos grupos de células germinales primordiales** que: **a)** no tienen un origen embrionario mesodérmico, sino que tienen un origen común con el mesodermo, porque tanto ambos grupos de células germinales como parte del mesodermo se originan a partir de un micrómero que él denomina el **micrómero d.4 (M)** ó **célula M**; ésta célula da origen a ambas líneas germinales y a parte del mesodermo; **b)** ambos grupos de células germinales aparecen durante la blastulación del embrión, y en la gastrulación ya están formados; **c)** las células germinales de cada grupo son sexualmente **unipotenciales**, un grupo origina la línea germinal masculina, y el otro origina la línea germinal femenina, pero el autor no es capaz de pronosticar qué grupo de células germinales origina a cual línea germinal; **d)** aunque ambas líneas germinales proceden de la **célula M**, son **independientes entre sí** desde el momento en que se forman; **e)** en la gastrulación del embrión, momento en que empieza la formación de la gónada, las dos líneas germinales, masculina y femenina, ya están formadas y son independientes; **f)** no encuentra diferencias citológicas entre las células germinales primordiales y las **espermatogonias** y las **ovogonias** que tiene el individuo adulto, sólo

observa que estas células tienen menor tamaño que las células germinales primordiales; o sea, que las espermatogonias y las ovogonias son, de hecho, células germinales primordiales; lo que claramente significa que las espermatogonias y las ovogonias son tejido germinal embrionario indiferenciado que está presente en el animal adulto. Del trabajo de este autor se desprende que: cuando se origina la larva trocófora, las líneas germinales masculina y femenina ya se han producido y son independientes entre sí y, además, ya se está formando el esbozo de la gónada, esbozo que contiene a las células germinales primordiales de ambas líneas germinales. Como comentaremos, el trabajo de Woods arroja luz interpretativa sobre los resultados que hemos obtenido en nuestro estudio.

En la investigación, y en el marco conceptual interpretativo, acerca del origen y el desarrollo de las células germinales en varios, y diferentes, grupos de organismos, se habla de las células denominadas “primordial germ cells” (PGC, células germinales primordiales) y de las células llamadas “germinal stem cells” (GSC, células madre germinales). Las PGC serían las primeras en aparecer en una fase muy temprana del desarrollo, en tejidos embrionarios alejados de la gónada, sufrirían un proceso de migración que las conduciría a la zona donde se formaría la gónada y, una vez allí, proliferarían e interactuarían con las células somáticas para dar comienzo a la gonadogénesis (Wylie, 1999). Esta migración estaría regulada por el ambiente celular (células somáticas) y la propia genética del organismo, y durante la migración las PGC se multiplicarían y parte se perderían. Al llegar a la gónada cambiarían su forma y talla, perderían su capacidad de movimiento y se diferenciarían en GSC (células madre germinales) que, mediante la diferenciación sexual, darían lugar al resto de las células germinales del individuo. Esta es la hipótesis que Caroline Fabioux (Fabioux, 2004) formula para el bivalvo *Crassostrea gigas*; esta autora plantea que en la embriogénesis de las líneas germinales de esta especie hay dos tipos de células germinales en la línea generatriz de las espermatogonias y las ovogonias, que son las PGC y las GSC. Las PGC surgen primero, sólo tienen vida embrionaria, y durante la embriogénesis se diferencian en GSC, que pasan a formar parte de la gónada. Las GSC pasan al animal juvenil y continúan existiendo en el individuo adulto donde, en ambos casos, se diferencian -no todas- en espermatogonias y en ovogonias. Además, plantea que, como de un ciclo reproductivo a otro las espermatogonias y las ovogonias se consumen en producir los correspondientes gametos, las GSC actúan de reservorio entre ciclos reproductivos; o sea, que las espermatogonias y las ovogonias se agotan en cada ciclo reproductivo, y son renovadas en el ciclo reproductivo siguiente a partir de las GSC.

Woods (1931) y Okada (1939) describen las PGC como células de gran tamaño, núcleo grande y claro, 1 ó 2 nucleolos, con finas bandas de cromatina, y citoplasma claro y pequeño. Son células que pertenecen a la línea germinal por tener gránulos perinucleares, que contienen los determinantes germinales (Saffman & Lasko, 1999). Allarakh (1979) las describe en *Aequipecten opercularis* como células móviles con una talla de 12,5-15 µm de diámetro, núcleo 9-12 µm, 2 nucleolos de 1,5 µm, con cromatina granulosa más densa en la periferia del núcleo y nucleolos, citoplasma ligeramente acidófilo, y plurimórficas con tendencia a ser alargadas. Ehmkke (2006) las describe como células con capacidad de autorrenovación, con escasa actividad mitótica antes de la diferenciación y productoras de células hijas.

Las GSC resultantes de la diferenciación de las PGC, tendrían mayor capacidad mitótica y gran capacidad de autorrenovación (Lin, 1997). Allarakh (1979) describe las GSC en

Aequipecten opercularis como células de 5-6 μm , con núcleo cromófilo coloreado y señala la agrupación y organización de algunas de ellas en los canales ciliados.

La génesis de la gónada en la zamburiña fue descrita por Lucas (1965), quien señala su origen a partir de las PGC, que surgirían de un grupo de células mesodérmicas a partir de los 6 meses de edad del animal, en la región que limita dorsalmente con el pericardio, anteriormente con el riñón y centralmente con el músculo aductor. Mediante la extensión ventral de las PGC se formarían los folículos, acompañados de un tejido conectivo más distendido. Los túbulos comenzarían a plegarse y, finalmente, los gonoductos se diferenciarían a medida que las células germinales se fuesen multiplicando.

La formación de la gónada en *Aequipecten opercularis*, de manera muy semejante a la descrita en *Pecten maximus* (Mason, 1958; Lowe, 1996), parece comenzar en la parte distal y extenderse hacia la parte proximal (Allarakh, 1979; Lubet & Allarakh, 1981). En la región cercana al músculo aductor aparecen las primeras células germinales bipotenciales, que migran y se multiplican dando lugar a las gonias, de menor tamaño y que comienzan a organizarse en folículos. Las mitosis goniales comienzan desde la parte posterior hacia la parte media de la gónada, al mismo tiempo que las células germinales migran en la misma dirección y comienza a diferenciarse el ovario. Primero se forma la porción femenina en la parte posterior de la gónada. Sin embargo, a pesar de que la formación de la porción masculina es más tardía, ésta se produce más rápido. La determinación del sexo parece depender de la existencia de un hipotetizado factor masculinizante y comienza a partir de la región anterior del intestino. Consiste, en definitiva, en un fenómeno de autodiferenciación a partir de una gónada indiferenciada.

En la presente investigación sobre *Chlamys varia*, se han utilizado animales juveniles mientras que hacían su primera y segunda gónada (los dos primeros períodos reproductivos), y en ellos hemos estudiado histológicamente el desarrollo gonoducto-folicular de la **primera gónada**, la aparición, desarrollo y maduración de las células germinales, la puesta y, seguidamente, la formación de la **segunda gónada**; así mismo, estas observaciones se han comparado con el estudio histológico de la gónada de moluscos de más edad (animales de 3-4 años, que han hecho 3-4 ciclos reproductivos), resultados que no se incluyen en esta tesis. En cuanto a las células germinales, sólo hemos encontrado **espermatozonias** y **ovogonias**. No se han observado células germinales primordiales (PGC) ni células madre germinales (GSC) que reúnan las características anteriormente descritas. Tampoco se han observado otras posibles células germinales con atributos de bipotencialidad sexual. Sólo se han visto espermatozonias y ovogonias que, eso sí, tienen características citológicas diferentes que las distinguen claramente. Opinamos que las GSC que otros autores han descrito en *Aequipecten opercularis* (Allarakh (1979) y en *Crassostrea gigas* (Fabioux, 2004), en el caso de *Chlamys varia* no existen, sino que son, en realidad, espermatozonias y ovogonias. Además, las espermatozonias y las ovogonias están siempre dentro del sistema gonoducto-folicular en que consiste la gónada, no las hemos observado en otras regiones anatómicas de los animales juveniles ni de los adultos. En cuanto a la existencia de PGC en *Chlamys varia*, estas células deben de existir, pero durante la embriogénesis del molusco.

Por lo tanto, como resultado de este estudio se formula que: **a)** las **espermatozonias** y las **ovogonias** son las únicas células germinales que tienen los individuos de *Chlamys varia* desde que son juveniles y establecen su primera gónada y, después, cuando son adultos; **b)** las líneas germinales masculina y femenina son independientes entre sí des-

de que el animal es juvenil, y durante toda su historia de vida posterior; **c)** la serie gametogénica masculina parte de una espermatogonia, que denominamos **espermatogonia primaria** (Spg1); **d)** la serie gametogénica femenina parte de una **ovogonia**. De acuerdo con las observaciones de Woods (1931) en *Sphaerium striatinum*, se sugiere que las células germinales iniciales, en este caso la **Spg1** y la **Ovg**, deben quedar determinadas durante la embriogénesis del animal, por lo que cuando se forma el juvenil, éste ya viene equipado con estas células germinales.

Los resultados de este estudio sustentan que los individuos juveniles y adultos de *Chlamys varia* sólo tienen **Spg1** y **Ovg** como **células germinales iniciales**, pero ¿Cuál es la historia de estas células durante la embriogénesis del molusco? Sobre este aspecto no disponemos de resultados propios ni de información bibliográfica relevante. Pero si *Chlamys varia* hace una embriogénesis semejante a la que realiza el bivalvo *Sphaerium striatinum* (Woods, 1931), las Spg1 y las Ovg serían la misma estirpe celular que las PGC, o sea, serían tejido germinal embrionario indiferenciado, que estaría presente en el molusco a partir de que finaliza la metamorfosis, y pasa a ser primero juvenil, y en adelante adulto en toda su historia de vida. Resultados análogos a estos que aquí se describen para *Chlamys varia* han sido obtenidos y elaborados por Silva (2012) para *Ostrea edulis*.

Acorde a nuestras observaciones sobre la gonadogénesis en el animal juvenil cuando hace su primera gónada, se propone la hipótesis siguiente: el juvenil forma su primera gónada a partir de un esbozo gonadal, que ya contiene a las células germinales (Spg1 y Ovg), y que surge en el tejido conjuntivo. A partir de este esbozo se forman los constituyentes no-germinales de la gónada, que son: **a)** gonoductos; **b)** tejido conjuntivo intragonoductal o masa celular conjuntiva (MCC); **c)** folículos gonadales, que derivan de los gonoductos; y **d)** conforme el esbozo gonadal se desarrolla en gónada, las Spg1 y las Ovg, que ya están en su interior, se multiplican. Estas células germinales iniciales van mezcladas en el seno de la MCC, junto con sus células. Esta MCC procede del embrión (Woods, 1931), es de origen mesodérmico y está constituida, al menos, por dos tipos de fibroblastos, unos de núcleo rojo, y otros de núcleo pardo. El origen embriológico de los gonoductos y, en consecuencia, el de las paredes foliculares y el de la MCC podrían ser diferentes al de las líneas germinales (Woods, 1931); mientras que los gonoductos, las paredes de los folículos y la MCC tienen origen mesodérmico, las células de la línea germinal no se originan a partir de ninguna de las capas germinales. Las células de la línea germinal tendrían un origen propio e independiente, se originarían a partir del **micrómero d.4 (M)** ó **célula M** del embrión (Woods, 1931; Extavour, 2003); siendo así porque los moluscos bivalvos tienen segmentación en espiral, y es en este tipo de segmentación donde aparece dicho micrómero descrito por Woods (Woods, 1931). Algún tipo de fibroblasto presente en la MCC devendrá en las denominadas “células auxiliares” que se observan adosadas a la membrana celular de los ovocitos en desarrollo.

En cuanto a la determinación de la línea germinal durante la embriogénesis de un animal, este asunto se ha estudiado en invertebrados y en vertebrados (Extavour & Akam, 2003), y actualmente hay dos hipótesis que recogen e interpretan los datos disponibles, que son: la hipótesis de la **preformación** y la hipótesis de la **epigénesis** (Extavour & Akam, 2003). La preformación explica bien las observaciones realizadas en moluscos, insectos y en el gusano *Caenorhabditis elegans*, mientras que la epigénesis interpreta adecuadamente los estudios realizados en vertebrados.

La hipótesis de la **preformación** se fundamenta en una **herencia maternal**, y formula que las células germinales son determinadas en el embrión a partir de un **plasma germinal** que procede del ovocito antes de ser fecundado. Durante la segmentación del cigoto, los constituyentes de este plasma germinal no se distribuyen uniformemente entre los blastómeros, sino que en conjunto -prácticamente en su totalidad- pasan en bloque, de un blastómero a otro, a lo largo de una línea particular de blastómeros y a medida que se forman, hasta que en un blastómero concreto causan que produzca la línea germinal. Este plasma germinal es una región citoplasmática concreta, y perinuclear, del ovocito que contiene organelas (mitocondrias, retículo endoplasmático rugoso, y fracciones del Golgi), ribosomas, transcritos de ARN-m y proteínas específicas. Fue Farris Woods (Woods, 1932) quien, en *Sphaerium striatinum*, primero identificó a las mitocondrias como componente de este plasma germinal, y las utilizó como marcador para rastrear el tránsito del plasma germinal desde el ovocito, y por los blastómeros de la segmentación del cigoto, hasta llegar al **micrómero d.4**, que origina la línea germinal. La región del plasma germinal existente en el citoplasma del ovocito origina una **estructura citoplasmática** que se tiñe, identifica y diferencia claramente mediante adecuadas técnicas histológicas para microscopía óptica. Así lo hizo el embriólogo E.G. Balbiani en 1864, quien la estudió extensamente en los ovocitos de arácnidos y de miriápodos (Balbiani, 1864), aunque no describió sus componentes organelares ni moleculares, asunto que varios autores realizaron posteriormente (Kloc *et al.*, 2004b, revisión); pero desde entonces esta estructura recibe el nombre de **cuerpo de Balbiani**, o **cuerpos de Balbiani**, si la estructura se observa fragmentada en el ovocito, como con frecuencia ocurre. De lo expuesto, se deduce que la presencia de cuerpos de Balbiani en los ovocitos de una especie es un indicador de que sus individuos producen la línea o líneas germinales mediante un proceso de **preformación**, y así opinamos que ocurre en *Chlamys varia*, como se comenta más adelante.

La hipótesis de la **epigénesis** trata de explicar la determinación de la línea germinal en las especies cuyos ovocitos no tienen plasma germinal o no se ha observado en ellos con claridad (Extavour & Akam, 2003, revisión). Esta hipótesis plantea que la línea germinal se forma durante la gastrulación y en el seno de lo que denomina **epitelio germinal**, que se forma en esta etapa del desarrollo embrionario; este epitelio está constituido por células procedentes de las tres capas germinales, predominando el mesodermo y el endodermo; la línea germinal se forma a partir de células mesodérmicas y como resultado de una interacción entre ellas y de la existencia de señales de inducción. Debido a la presencia de cuerpos de Balbiani en los ovocitos de *Chlamys varia*, opinamos que no le es aplicable esta hipótesis.

En las últimas décadas, se ha demostrado que existen varios genes (complejos nanos/plumidio, piwi/tudor, y genes vasa, mvh, pie-1) que son necesarios para la formación de las células germinales; que éstos se conservan a lo largo del proceso evolutivo; que el origen y la localización embrionarios de las células germinales en los diferentes organismos muestra cierta flexibilidad, y que existe similitud en las interacciones bioquímicas entre las distintas moléculas que intervienen (Hay *et al.*, 1988; Fujiwara *et al.*, 1994; Ikenishi *et al.*, 1996; Toyooka *et al.*, 2000; Fabioux, 2004; Ewen-Campen, 2010).

4.4.1.2 Desarrollo de la gónada

Dorange *et al.* (1989) señalan el origen de la gónada en los pectínidos próximo al intestino, mientras que Coe (1943b) y Knaut *et al.* (2000) observan el comienzo de la forma-

ción gonadal en los bivalvos en la zona ventral del pericardio, alrededor del ganglio visceral. Lucas (1965) y Lubet & Allarakh (1981) describen, sin embargo, el inicio de la génesis gonadal de *Chlamys varia* en la región reno-pericárdica.

En este estudio, se matizan las descripciones citadas anteriormente, y se señala que en *Chlamys varia* la formación de la gónada comienza desde la base del pie, junto al riñón, continuando posteriormente su desarrollo rodeando al músculo aductor por el costado anterior y rodeando al intestino.

Estando de acuerdo con la existencia de un desarrollo precoz de la gónada en los lamebranquios, descrito por Pérez-Camacho & Román (1987), en este trabajo se ha observado que el desarrollo gonadal de *Chlamys varia* ya ha comenzado en los animales de **8,5 meses** de edad, cuando la altura media de la concha de los individuos es de **13,7 mm**, o incluso antes. De igual forma, Lucas (1965) señala el origen de la gónada en esta especie a edades muy tempranas, a partir de los **6 meses**, y De la Roche (2008) a partir de los **8 meses**, cuando los individuos alcanzan entre **7 y 12 mm** de altura de la concha.

En otros bivalvos también se ha demostrado un desarrollo precoz de la gónada, así, en *Aequipecten opercularis* comienza antes de su primer invierno de vida (Lubet & Allarakh, 1981), y en *Ostrea lurida* los primeros indicios gonadales se pueden observar 8 semanas después del asentamiento (Coe, 1931).

Existe una clara relación directa entre la edad del molusco y el desarrollo de la estructura gonadal, ya que a medida que se desarrolla esta estructura y aumenta su volumen, se va desarrollando también su funcionalidad.

A diferencia de lo que según Beninger & Le Pennec (2006) sucede en general en los pectínidos, donde la gónada comienza su diferenciación en el estadio de postlarva y es posterior a la formación de la mayoría de los órganos, en *Chlamys varia* hemos observado que la gónada se va desarrollando durante el crecimiento del animal al mismo tiempo que el resto de sus órganos vitales.

4.4.1.3 Estructura de la gónada

El orden secuencial del desarrollo de la gónada en *Chlamys varia* comienza con la formación del epitelio externo de revestimiento. A continuación, se desarrolla debajo del mismo el tejido conjuntivo donde surgirán progresivamente las estructuras de la gónada: gonoductos, folículos, MCC, espermatogonias y ovogonias. Simultáneamente se forman las fibras de colágeno del conjuntivo, el músculo liso interfolicular, el músculo liso subepitelial y los canales hemolinfáticos. Este orden secuencial de desarrollo de la gónada confirma la hipótesis de De la Roche (2008), con la única excepción de que en este estudio no se aprecia una separación temporal en la formación de los folículos y de los gonoductos como señala este autor.

El epitelio externo de revestimiento es una estructura temprana que aparece en el desarrollo de la gónada, y presenta en su tercio distal un epitelio especializado con células que contienen un pigmento marrón, que observamos desde el inicio de este estudio en un pequeño porcentaje de individuos. Este epitelio pigmentado alcanza gran tamaño y grosor en las zamburiñas de mayor edad y talla, y afecta a la totalidad de las mismas. Autores como Orton (1927) y Amirthalingam (1928) describieron tejidos pigmentados

semejantes, con función fotorreceptora en *Ostrea edulis* y *Aequipecten opercularis*, similares tanto en morfología como en localización al que presenta *Chlamys varia*. Estas observaciones, junto con el hecho de que *Chlamys varia* sea una especie fotosensible (De la Roche, 2008), sugiere que la función del epitelio pigmentado que aparece en la gónada de *C. varia* posiblemente sea también fotorreceptora.

El tejido conjuntivo que se desarrolla en el espacio gonadal (región anatómica donde crece la gónada) de *C. varia* inicia su desarrollo rodeando el intestino y, a medida que se va formando la gónada primaria (G1), prolifera aumentando en cantidad. Este tejido, además de contribuir al mantenimiento de la estructura gonadal, podría actuar, también, como lugar de acumulación de reservas energéticas para los gametos en desarrollo; realizaría esta función de reserva energética mediante **células vesiculares (VC)**, que hemos observado principalmente en los individuos jóvenes. Aunque anteriormente a este estudio no se han descrito células vesiculares en el tejido conjuntivo de los pectínidos, si ha sido propuesta esta posibilidad por Coe (1943b) en el género *Pecten*.

En *Chlamys varia*, la formación de los gonoductos y de los folículos, así como el desarrollo de las series gametogénicas en su interior, es prácticamente simultánea, aunque antecede el crecimiento de los gonoductos y el desarrollo de las series gametogénicas en su seno. La sensación de simultaneidad procede del hecho observado de que conforme crecen los gonoductos y las células germinales (espermatogonias y ovogonias) proliferan en su interior, a la vez se forman los folículos por diverticulación de los gonoductos. El desarrollo de las series gametogénicas, a partir de las células germinales, ocurre tanto en los gonoductos como en los folículos. Los folículos son un sistema de expansión de superficie, a partir de los gonoductos, para alojar el desarrollo de más series gametogénicas. El crecimiento de la gónada consiste en el desarrollo progresivo de un **sistema gonoducto-folicular**, que parte de gonoductos y se expande en folículos, y donde, simultáneamente, las células germinales proliferan y desarrollan las series gametogénicas. En el principio del crecimiento de este sistema gonoducto-folicular, predominan los gonoductos sobre los folículos, pero, gradualmente, la formación de los folículos -por diverticulación de los gonoductos- aumenta, deviene exponencial y, finalmente, hace que ellos sean la estructura histológica organizativa más abundante en el volumen de la gónada. De este modo, los gonoductos tienen, entre otras, dos funciones: **a)** primero son el sistema de vehiculación de las células germinales y de formación de los folículos; **b)** después, devienen en la red de canalización para la evacuación de los gametos.

El sistema gonoducto-folicular que describimos para la gónada de *Chlamys varia* es muy similar al pormenorizado por Silva (2012) para *Ostrea edulis*. Así, también en *Chlamys varia* las **fases sexuales** masculina y femenina se desarrollan independientemente entre sí en el interior de los gonoductos y de los folículos, e igualmente ocurre entre las **series gametogénicas** que constituyen una misma fase sexual, ya sea masculina o femenina. Para que las series gametogénicas de una fase sexual se desarrollen, observamos que no es necesaria la existencia de una cantidad determinada, o masa crítica, de espermatogonias o de ovogonias, según el caso, sino que cada espermatogonia u ovogonia inicia de modo independiente su camino de diferenciación y subsiguiente formación de gametos. En este punto, es posible que existan señales de coordinación neuroendocrinas -a su vez, estimuladas por el medio ambiente- que desencadenen y sincronicen la formación de las series gametogénicas a partir de espermatogonias y de ovogonias, pero tales señales moleculares aún tienen que ser demostradas.

La observación de que entre la formación de los gonoductos, de los folículos y de las series gametogénicas en la gónada de *Chlamys varia* hay escasa separación temporal, confirma la descripción previa hecha por Beninger & Le Pennec (1991). Sin embargo, De la Roche (2008) señala un comienzo de la formación gonoductal anterior a la folicular para esta misma especie, y Woods (1931) y Coe (1943b) observaron que la formación de los folículos es anterior a la de los gonoductos en diferentes bivalvos. En consecuencia, dentro del grupo de los bivalvos, el orden de formación de estas estructuras es variable entre especies.

En los juveniles de *Chlamys varia*, conforme se va desarrollando la gónada primaria (G1), se comienza a formar un sistema gonoductal que se evagina y diverticula, dando lugar así a los folículos gonadales, donde, al igual que en los gonoductos, comienzan a desarrollarse inmediatamente las series gametogénicas. Se confirma el hecho de que nunca aparecen células de la línea germinal fuera del sistema gonoductal en la gónada de *Chlamys varia*, tal como señala De la Roche (2008). Además, cuando se desarrollan las series gametogénicas masculinas, llegan a la maduración, por lo que se ha comprobado que ya puede existir maduración sexual de la fase sexual masculina en animales muy pequeños en tamaño y en edad. En este trabajo se constata, por lo tanto, que esta especie constituye un caso particular dentro de los pectínidos, ya que en general las especies de esta familia no alcanzan la madurez sexual hasta pasado un año de vida (Reddiah, 1962; Beninger & Le Pennec, 1991).

En *Chlamys varia*, el desarrollo de los gonoductos y de los folículos muestra cierta variación dependiendo de la zona de la gónada donde estén situados. Se ha observado que en los juveniles que hacen su primera gónada, estas estructuras comienzan a desarrollarse en la base del pie y se van extendiendo alrededor del intestino y entre las asas intestinales, por lo que estas zonas presentan situaciones más avanzadas en el desarrollo que en el resto de la gónada. Otras especies han mostrado un patrón de desarrollo análogo de gonoductos y folículos, presentando un mayor desarrollo folicular en diferentes zonas según la especie. En *Ostrea edulis*, el grado de desarrollo es mayor en los folículos más cercanos a la apertura gonoductal y más lejanos al ligamento (Cole, 1942), mientras que en *Pecten maximus* comienzan a desarrollarse los folículos en la parte gonadal proximal, correspondiente a la fase sexual masculina, por lo que en esa zona están más desarrollados y son más numerosos (Lowe, 1996).

Del mismo modo que en este estudio, Reddiah (1962) describe folículos con diferentes formas y tamaños en la gónada de *Chlamys varia* dependiendo de la talla y edad de los ejemplares. Señala, además, que los folículos tienden a ser circulares, presentando un diámetro medio en estadio maduro entre 500-800 μm . Chipperfield (1953) describe un tamaño más uniforme en los folículos masculinos que en los femeninos del mejillón. Sin embargo, en *Chlamys varia* no hemos observado una variación importante entre los folículos de ambas fases sexuales.

Tras la formación del sistema gonoducto-folicular en la gónada de *Chlamys varia*, se observa, en el seno del tejido conjuntivo, la formación de los canales hemolinfáticos, los haces musculares y las fibras de colágeno. Mason (1958, 1963) sugiere una importante función a los haces musculares: además de la participación en el mantenimiento estructural de la gónada, plantea que, mediante contracciones musculares, participan activamente en la evacuación de los gametos. Esta observación se pudo confirmar en este trabajo para el caso de *Chlamys varia*, ya que en el estadio de puesta se observa un incre-

mento en el número y tamaño de los haces musculares en el espacio gonadal, y situados alrededor de los folículos y de los gonoductos.

4.4.2 Gametogénesis

El desarrollo de las líneas germinales durante la gametogénesis de *Chlamys varia* se realiza de forma centrípeta en el seno de los folículos, tal como describe Fabioux (2004) en *Crassostrea gigas*. También, de manera análoga en ambas especies (*Chlamys varia* y *Crassostrea gigas*), la progresión no es de forma totalmente lineal, sino de manera sincrónica por pequeños grupos celulares, tal como observa Franco (2008) en la segunda especie. Nuestro estudio añade que, según lo observado en *Chlamys varia*, la gametogénesis también ocurre en el seno de los gonoductos.

Por lo tanto, *Chlamys varia* presenta una gametogénesis asincrónica, al igual que los demás pectínidos de interés comercial que se dan en Galicia, y esto conlleva que se puedan reproducir durante un dilatado periodo de tiempo a lo largo del año (Pazos *et al.*, 1996; Canales, 1998; Román *et al.*, 2000, 2001). Sin embargo, los desoves en las poblaciones de esta especie se realizan de manera más o menos sincrónica (ver Capítulo 3) para aumentar la probabilidad de éxito, de acuerdo con el patrón general descrito en los pectínidos por Barber & Blake (1991), Román *et al.* (2001) y De la Roche (2008).

Según Remacha-Triviño (2005), la evolución de la gametogénesis en *Solen marginatus* es independiente del tamaño de los individuos, situación que se da también en *Chlamys varia*, observándose un desarrollo de las series gametogénicas simultáneo a la formación de los gonoductos y de los folículos desde el inicio de la gónada primaria (G1).

En este estudio, *Chlamys varia* presentó una gametogénesis continua durante todo el ciclo anual, sin la existencia del **estadio C** de restauración. Además, los gametos, una vez maduros, son evacuados por la red de gonoductos. Del mismo modo, Mason (1958) describe en *Pecten maximus* cómo la gametogénesis ocurre durante todo el año sin la existencia de un periodo de reposo tras la puesta, mientras Paulet & Boucher (1991) observan cierta discontinuidad gametogénica, ya que los ovocitos entran en vitelogénesis y se almacenan hasta alcanzar una talla máxima.

Diferenciación entre espermatogonias y ovogonias

En la bibliografía se puede apreciar una confusión importante en la identificación de las espermatogonias y las ovogonias en base a sus características morfológicas y citológicas. Además de aparecer discrepancias en las descripciones celulares dentro de una serie gametogénica, existe confusión incluso entre ambas series, la masculina y la femenina. Autores como Lubet (1959) y Lucas (1965) señalan como característica diferencial entre las **Spg** y las **Ovg** de *Chlamys varia*, la presencia de 2 nucleolos en las primeras y de sólo 1 nucleolo en las Ovg. Franco (2008), en *Crassostrea gigas*, denomina espermatogonias I a células grandes, que en este estudio se consideran células de la serie gametogénica femenina por su descripción e ilustraciones que ofrece el autor. De manera semejante, De la Roche (2008) denomina espermatogonias claras a las células descritas en este estudio como ovogonias.

Este estudio no confirma ninguna de las descripciones publicadas hasta el momento sobre las espermatogonias y las ovogonias de *Chlamys varia*, por lo que se ha considerado de interés definir con detalle las características diferenciales entre unas y otras. En

Chlamys varia, las espermatogonias primarias (Spg1) y las ovogonias tienen gran tamaño, sin embargo las Ovg pueden alcanzar tamaños superiores; las Ovg contienen 1 ó 2 nucleolos periféricos de gran tamaño, mientras que las Spg1 pueden contener 1-3 nucleolos en esta especie; el nucleoplasma presenta gran tamaño en ambas células pero, en las Spg1 es **oscuro** y en las Ovg es **claro** con membrana nuclear oscura; el citoplasma es escaso y tenue en ambas; y además, las Spg1 se adosan a la pared folicular por su eje menor, mientras que las Ovg lo hacen por su eje mayor en grupos de 2-3 células.

4.4.2.1 Espermatogénesis

En este estudio, se realiza, además, una interpretación nueva del proceso de espermatogénesis en *Chlamys varia*, que confirma y aplica los resultados alcanzados y la hipótesis propuesta por Silva (2012) para la espermatogénesis de *Ostrea edulis*. Hasta el momento se acepta la teoría de Domen (1883), que señala en su desarrollo una fase de multiplicación mitótica de las espermatogonias, seguida de dos divisiones meióticas, acompañadas de divisiones citoplasmáticas y, finalmente, una diferenciación celular para producir los espermatozoides. Sin embargo, las observaciones de nuestro estudio revelan que en *Chlamys varia* las Spg1 se dividen inicialmente de manera mitótica e individual originando más Spg1; pero, cuando una Spg1 se compromete a diferenciarse, y así generar una serie gametogénica, inicia el proceso llevando a cabo un mecanismo de amplificación celular, que consiste en una serie secuencial de mitosis de proliferación con reducción de tamaño (proliferación con reducción de tamaño, PRT), donde en cada mitosis surgen nuevas espermatogonias pero de menor tamaño que sus progenitoras; llamamos **espermatogonias secundarias (Spg2)** a todas y a cada una de las espermatogonias que se producen en este proceso de PRT (Silva, 2012). Cuando una PRT acaba de producir todas las Spg2, resulta en un clon de Spg2 (Spg2/c). Las Spg1 hacen las PRT por grupos de Spg1 y en sentido lineal y radial -formando hileras- hacia el lumen folicular, para dar lugar finalmente a los clones de Spg2 de siguientes generaciones (Spg2/c). Además, este proceso de PRT, que conlleva la formación de los clones celulares de espermatogonias secundarias, parece que es imprescindible que tenga lugar el comienzo del proceso meiótico.

Espermatogonias primarias (Spg1)

La Spg1 es la primera espermatogonia que surge en la gónada de *Chlamys varia*, es la de mayor tamaño y presenta colores más claros, por lo que De la Roche (2008) la denominó “espermatogonia clara”. Son escasos los investigadores que señalan la talla celular de las series gametogénicas. La talla media de las Spg1 observada en este estudio fue de $4,17 \pm 0,18 \mu\text{m}$ de diámetro, que es un tamaño inferior a los $7,33 \pm 0,33 \mu\text{m}$ descritos por De la Roche (2008) para la misma especie, o a los $5,7 \mu\text{m}$ de diámetro indicados por Coe (1931) en *Ostrea lurida*. Además, en este estudio también se describen el diámetro del núcleo, que es de $3,23 \pm 0,15 \mu\text{m}$, la relación N/C de $0,78 \pm 0,03 \mu\text{m}$ y el diámetro de los nucleolos de $0,97 \pm 0,02 \mu\text{m}$.

Las Spg1 se sitúan adosadas a la pared folicular por su eje menor, por lo que se podría decir que se localizan adosadas a la pared en sentido perpendicular a ella, ya que se multiplican en hileras hacia el lumen folicular. Del mismo modo, Coe (1931) describe la primera división de las Spg1 como vertical a la pared folicular en *O. lurida*.

Espermatogonias secundarias (Spg2)

Estas células comparten las mismas características que las Spg1, pero con la diferencia de que son más pequeñas. La reducción en el tamaño de las espermatogonias es ampliamente citada en los bivalvos. Así, por ejemplo, De la Roche (2008) para esta misma especie, Galtsoff (1964) en *Crassostrea virginica*, Coe (1931) en *Ostrea lurida* o Allarakh (1979) en *Aequipecten opercularis*, señalan también una reducción sucesiva en la talla de las Spg. Sastry (1979) detalla, además, la presencia de una menor cantidad de citoplasma en las Spg2, así como un núcleo de menor tamaño. De igual modo, Allarakh (1979) describe un citoplasma poco abundante en las espermatogonias de *Aequipecten opercularis*. En este estudio se observó un menor tamaño nuclear en la Spg2, pero una relación N/C semejante entre Spg1 y Spg2. Por el contrario, De la Roche (2008) describe un incremento significativo de dicha relación en estas espermatogonias, denominando a las Spg2 como “espermatogonias oscuras”.

En las gónadas de *Chlamys varia* que hemos estudiado, las Spg2 son más oscuras y se encuentran más próximas al lumen folicular, se organizan en hileras columnares de Spg2 de diferentes tamaños que se orientan desde la pared folicular hacia el lumen del folículo. En cada folículo se pueden observar grandes hileras, debido a 6-9 PRTs, alcanzando menores tamaños las Spg situadas más cerca del lumen folicular. Según Coe (1931) el número de PRTs que se producen en los bivalvos depende presumiblemente de la cantidad de alimento o energía disponible. Nosotros opinamos que el número de PRTs que se producen depende, también, de la especie de molusco. Además, describimos el proceso de PRT como un proceso necesario y secuencial de proliferación de las espermatogonias a partir de las Spg1, así como la formación de clones de Spg2, que tiene que ocurrir antes de que las espermatogonias entren en meiosis.

Espermatocitos primarios (Spc1)

En este estudio, llamamos espermatocitos primarios (Spc1) a la última generación de espermatogonias secundarias (Spg2) que surgen de un proceso de PRT, y que son las espermatogonias que van a emprender -o lo están iniciando ya- el proceso de meiosis (Silva, 2012). Son pequeñas células oscuras que presentan una talla media de $2,58 \pm 0,24 \mu\text{m}$ de diámetro, menor que la talla de las Spg1 y de la mayoría de las Spg2. Este tamaño es semejante al descrito por De la Roche (2008) para esta misma especie ($2,82 \pm 0,08 \mu\text{m}$), pero muy inferior a los $6-7 \mu\text{m}$ citados por Allarakh (1979) para la especie *Aequipecten opercularis*. El diámetro del núcleo es de $2,07 \pm 0,24 \mu\text{m}$, inferior a los $3-3,5 \mu\text{m}$ señalados por Lucas (1965) en la misma especie, por Franco (2008) en *Crassostrea gigas* ($3,4-3,6 \mu\text{m}$) o por Allarakh (1979) en *Aequipecten opercularis* ($4-5 \mu\text{m}$). Su relación núcleo-citoplasma es de $0,80 \pm 0,04 \mu\text{m}$, similar a la presente en el estadio gametogénico anterior. Datos semejantes obtiene De la Roche (2008), con una relación superior a 0,9 como valor promedio. Además, en este estudio se observó que los Spc1 mantienen el nucleolo durante la profase, etapa en la que se produce la condensación cromosómica. En *Chlamys varia*, estas células poseen cromatina muy condensada en el nucleoplasma y una membrana nuclear oscura y citoplasma muy escaso. Esta misma observación fue descrita por Lucas (1965), Allarakh (1979) y Franco (2008) cuando los Spc1 se encuentran en el estadio de leptoteno de la meiosis.

Espermatocitos secundarios (Spc2)

Los Spc2 son las células que resultan del proceso de meiosis I. Son células esféricas difíciles de observar, posiblemente porque entran rápidamente en la meiosis II una vez que se forman (Lucas, 1965; Xin-hong *et al.*, 2002). Franco (2008) al no conseguir ob-

servar los Spc2 de *Crassostrea gigas* con microscopía óptica, señala la necesidad de emplear la microscopía electrónica para su observación. Con esta técnica describe los Spc2 como células esféricas, con cromatina densa, citoplasma reducido y con vesículas proacrosomales. Estas características diferenciales de los Spc2 en *Crassostrea gigas* son coincidentes con las que describimos para *Chlamys varia*. Sin embargo, empleando microscopía óptica no se lograron observar las vesículas proacrosomales en los Spc2 de esta especie; en cambio, en este estudio sí se logró observar y describir los Spc2 de *Chlamys varia*.

La talla de los Spc2 ($1,79 \pm 0,07 \mu\text{m}$) en *Chlamys varia* es un poco menor a la de los Spc1. Este resultado es similar a las $2,13 \pm 0,07 \mu\text{m}$ obtenidos por De la Roche (2008). Galtsoff (1964) detalla también su menor tamaño respecto a los Spc1 en *Crassostrea virginica*. Sin embargo Allarakh (1979) describe los Spc2 en *Aequipecten opercularis* como células de 4-5 μm , tamaño muy superior al obtenido en *Chlamys varia*. El citoplasma de los Spc2 es escaso, tal como señala De la Roche (2008), mientras que otros autores (Lucas, 1965; Allarakh, 1979) observan que el núcleo de los Spc2 presenta intensa tinción, como también se pudo comprobar en este estudio con *Chlamys varia*.

Los Spc2 se localizan en el lumen folicular, en pequeños grupos celulares y, como afirma De la Roche (2008), es frecuente verlos formando sincitios estructurales entre 2-4 células o incluso más. Observación similar es la realizada por Woods (1931), quien describe los Spc2 de *Sphaerium striatinum* siempre formando parejas.

Espermioogénesis: espermátidas tempranas (Spdt) y espermátidas tardías (Spdtd)

En este trabajo es la primera vez que se diferencian las espermátidas tempranas (Spdt) de las espermátidas tardías (Spdtd). El tamaño de las Spdt disminuye progresivamente a partir de los Spc2 y su morfología es muy semejante a éstos. Las espermátidas se diferencian progresivamente, toman forma alargada y adquieren finalmente forma de bellota. Similares observaciones fueron realizadas por Woods (1931), Lucas (1965), Allarakh (1979) y De la Roche (2008).

Las espermátidas tempranas, en su proceso de diferenciación, desarrollan el acrosoma y el flagelo, ambos comienzan a percibirse mediante microscopía óptica en estadio de Spdtd. Las espermátidas mantienen una alta relación núcleo-citoplasma, con escaso citoplasma en su interior, que poco a poco irán perdiendo, como describen Woods (1931) y De la Roche (2008). Además, Woods (1931) señala la existencia de finas mitocondrias en el citoplasma celular, y Lucas (1965) describe que poseen entre 3-5 mitocondrias esféricas en forma de collar, situadas en la base del núcleo de las espermátidas. Franco (2008) observa, mediante microscopía electrónica, 4 grandes mitocondrias y el axonema en el citoplasma de las espermátidas de *Crassostrea gigas*. En la realización de esta tesis doctoral, se observó en *Chlamys varia* la presencia de 2-3 mitocondrias teñidas de intenso azul en la periferia nuclear de las Spdtd, región donde se inicia y arraiga el futuro flagelo.

Espermatozoides (Spz)

Los espermatozoides (Spz) son las células funcionales que produce el proceso de espermatogénesis, y son las células de menor tamaño, en cuerpo celular, que se pueden ver durante este proceso en *Chlamys varia*. Poseen una longitud media de la cabeza de $1,26 \pm 0,02 \mu\text{m}$ y una anchura media de $1,01 \pm 0,01$. Esta talla es inferior a los 1,5-2 μm señalados por Reddiah (1962) y a las 2 μm citadas por Lucas (1965); sin embargo, es

ligeramente superior a la obtenida por De la Roche (2008), que no supera 1 μm . Otras especies, como *Pecten maximus* y *Aequipecten opercularis*, presentan espermatozoides con una talla de 2 μm , superando el tamaño de los de *Chlamys varia* (Allarakh, 1979; Dorange & Le Pennec, 1989). Los espermatozoides de *Chlamys varia* tienen un flagelo largo, con una longitud media de $70 \pm 4,05 \mu\text{m}$, superior a los 45 μm de los Spz maduros descritas por Lucas (1965) o a los 45-50 μm citados para *Pecten maximus* (Dorange & Le Pennec, 1989). Sin embargo, esta longitud del flagelo puede variar dependiendo del ángulo de la sección histológica.

En los moluscos bivalvos la morfología de los Spz es muy variable. En *Chlamys varia*, la cabeza tiene forma de bellota, mucho más corta y ancha que en otras especies como *Ruditapes decussatus* (almeja fina) o *Ruditapes philippinarum* (almeja japónica). Es un poco más alargada que en el género *Pecten*, en el que se incluye la vieira, o *Aequipecten*, donde se encuentra la volandeira (Le Pennec, 2006).

Reddiah (1962) observa también una gran variabilidad en el tamaño del acrosoma dependiendo de las especies, siendo en *Chlamys varia* menos desarrollado (menor longitud) que en la almeja fina o el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), y de similar longitud al de *Aequipecten opercularis* (Allarakh, 1979).

Algunos autores como Wilczynski (1959), señalan la existencia de polimorfismo en los Spz dentro de una misma especie, dependiendo de su estado de desarrollo. No se puede afirmar la existencia de este polimorfismo en los Spz de *Chlamys varia*, ya que no se observaron variaciones significativas en la talla ni en la forma.

Los Spz son células inmóviles tanto en el interior de los folículos como de los gonoductos, adquiriendo la movilidad segundos después de haber sido liberados al mar (Velasco, 2008). Su función principal consiste en la fertilización y la transmisión del material genético del organismo.

4.4.2.2 Ovogénesis

Al igual que en la espermatogénesis, también se asume que durante la ovogénesis las ovogonias (Ovg) se dividen mitóticamente (Dohmen, 1983). Pero en *Chlamys varia* hemos observado dos procesos secuenciales de multiplicación proliferativa: la proliferación independiente y la proliferación clonal (PC). En la proliferación clonal se forman clones de ovogonias (Ovg/c), que son las que inician la primera división meiótica. Los niveles de divisiones mitóticas en el seno de una proliferación clonal son pocos (4-5 mitosis), y realizadas estas mitosis todas las ovogonias del clon entran en meiosis. En consecuencia, el proceso de PC, que conlleva la formación de los clones celulares, constituye un proceso fundamental e imprescindible en esta especie para que dé comienzo el proceso meiótico. Además, en este trabajo se describen 2 posibles formas en la PC de las Ovg de *Chlamys varia*, que se distinguen por el tipo de orientación de las metafases en el proceso de la mitosis: a) proliferación clonal en grupo; y b) proliferación clonal en línea.

En la maduración meiótica ovocitaria de la mayoría de las especies de bivalvos, la primera frenada meiótica se realiza en la **profase de la meiosis I**, estadio de **diacinesis** (Lucas, 1984), mientras que la segunda frenada es muy variable dependiendo de las especies (Greenstein, 2005). Generalmente, se acepta que la segunda frenada de la

meiosis en los bivalvos se produce en la **metafase de la meiosis I** (Longo, 1983), siendo claros ejemplos de ello *Pecten jacobaeus* (Micarelli *et al.*, 1994), *Pecten magellanicus* (Desrosiers *et al.*, 1996) y los géneros *Ruditapes*, *Crassostrea* y *Mytilus* (Osanai & Kuraishi, 1988). En *Pecten jacobaeus*, esta segunda parada se realiza cuando los ovocitos alcanzan los 60-70 μm de diámetro (Micarelli *et al.*, 1994), en ese momento están listos para ser liberados, fertilizados y así poder completar el resto de las fases meióticas. La segunda frenada meiótica de los ovocitos en metafase de la meiosis I también se ha observado en *Aequipecten opercularis* (resultados de nuestro grupo de investigación); y parece ser que en esta especie, la rotura de la vesícula germinal (GVBD) debe producirse muy rápidamente, ya que no se observan ejemplares en este estadio. Sin embargo, en este estudio se observó que *Chlamys varia* realiza la segunda frenada meiótica en el **estadio de GVBD**, estadio que ocurre todavía en la MeI y es una transición desde la diacinesis a la metafase pero sin llegar a ella; los ovocitos en este estadio tienen un diámetro medio de $46,35 \pm 2,54 \mu\text{m}$. Por otro lado, existen moluscos como *Spisula*, *Barnea* y *Macra* donde parece que no llega a producirse una segunda frenada meiótica, ya que tras realizar la puesta, los ovocitos se frenan en profase I y la fertilización se produce en esta misma fase reiniciándose la meiosis (Colas & Dubé, 1998; Deguchi, 2007).

Con los resultados obtenidos en este estudio, se sugiere que los moluscos bivalvos, si realizan la segunda frenada meiótica, que es lo habitual, posiblemente la harán en el estadio de GVBD (*Chlamys varia*) o en el de metafase de la MeI (*Aequipecten opercularis*).

Widowati *et al.* (1992) y Leclerc *et al.* (2000) han propuesto que la fecundación puede producir la GVBD del ovocito por la expulsión del corpúsculo polar, mientras que otros autores opinan que la fertilización permite la liberación del bloqueo meiótico (Osanai & Kuraishi, 1988; Deguchi, 2007). Sin embargo, Tosti (2006) señala que la fertilización proporciona la señal para la división ininterrumpida del embrión. En este estudio, se ha observado que el proceso de GVBD se produce en la zamburiña con anterioridad a la puesta y fecundación del ovocito, invalidando de este modo la primera de las hipótesis citadas. Sin embargo, lo que no ha sido posible confirmar es si a continuación de la emisión de los ovocitos se reanuda la meiosis, o bien, si los ovocitos requieren de la fertilización para salir de la segunda frenada meiótica.

Se han sugerido una serie de posibles estímulos para que se produzca la GVBD y, consecuentemente, la maduración meiótica ovocitaria. Vélez *et al.* (1988) y Román *et al.* (2001) señalan la posibilidad de que cambios en los factores externos, como la temperatura, estimulen la producción de ciertas sustancias (segundos mensajeros), que, además de activar la puesta, también activan la GVBD, indicando el reinicio de la meiosis. Coe (1933) en *Teredo* y Mason (1983) en *Pecten maximus*, observaron que el agua de mar produce la GVBD, posibilitando por lo tanto la reanudación de la meiosis. En un estudio reciente Tosti (2006) propone que la maduración ovocitaria está controlada por la participación de numerosas vías metabólicas. Así pues, considera necesaria la producción de un ligando inductor de la GVBD, que va a variar según las especies (1-metiladenina, serotonina, esteroides u hormona luteinizante) y que la segunda frenada está modulada por diferentes mensajeros intracelulares como el adenosín monofosfato cíclico (AMPC).

Ovogonias (Ovg)

Tras el análisis histológico realizado en la especie *Chlamys varia*, se puede afirmar que sus ovogonias (Ovg) son las células germinales iniciales de mayor tamaño presentes en esta especie. La misma apreciación fue observada por Cole (1942) en la especie *Ostrea edulis*. Sin embargo, Lucas (1965) en *Chlamys varia* y Dorange *et al.* (1989) en *Pecten maximus*, las describen como células de menor tamaño que las Spg1; esta discrepancia posiblemente se debe a la dificultad de identificar las Spg1 y las Ovg y diferenciarlas entre sí, tal como se ha señalado anteriormente.

La Ovg en *Chlamys varia* presenta un tamaño medio de $4,96 \pm 0,17 \mu\text{m}$ de diámetro, comparativamente menor al obtenido por De la Roche (2008) en esta misma especie ($6,55 \pm 0,31 \mu\text{m}$), a la Ovg de 6-8 μm de largo por 3-5 μm de ancho de *Pecten maximus* citada por Beninger & Le Pennec (1991) y a la Ovg de 7,5-9 μm de diámetro observada por Allarakh (1979) en la especie *Aequipecten opercularis*.

Las Ovg de *Chlamys varia* en las rías gallegas pueden tener varias morfologías, aunque en general suelen poseer uno de los ejes con un diámetro algo mayor que el otro. Esta apreciación fue también observada en las Ovg de *Pecten maximus* por diversos autores (Dorange *et al.*, 1989; Dorange & Le Pennec, 1989; Beninger & Le Pennec, 1991). Sin embargo, las Ovg de *Chlamys varia* observadas por De la Roche (2008) difieren considerablemente, ya que presentan una forma de células esféricas y no presentan, por tanto, la variabilidad de diámetros observada en este estudio.

En *Chlamys varia* se ha observado una alta relación núcleo-citoplasma ($0,80 \pm 0,03 \mu\text{m}$), núcleo de $3,94 \pm 0,10 \mu\text{m}$, membrana nuclear oscura y escaso citoplasma. De la Roche (2008) obtiene una relación núcleo-citoplasma similar, mientras que Allarakh (1979) describe núcleos de gran tamaño en las Ovg de *Aequipecten opercularis* con una talla media de 6-7 μm . Esta alta relación núcleo-citoplasma se repite en otras especies como *Pecten maximus* (Beninger & Le Pennec, 1991) y *Ostrea edulis* (Cole, 1942). Durante este estudio, el nucleoplasma de las Ovg de *C. varia* presentó poca tinción, es decir, mostró cromatina poco condensada, al igual que los resultados de De la Roche (2008), o las Ovg de *Aequipecten opercularis* y *Ostrea edulis* (Cole, 1942; Allarakh, 1979). Esta observación contrasta claramente con el resultado obtenido por Lucas (1965) en *Chlamys varia*. Este autor describe un núcleo coloreado, redondo y con cromatina granulosa. Igualmente, Dorange *et al.* (1989) y Dorange & Le Pennec (1989) diferencian en *Pecten maximus* grandes núcleos ovoides ocupados por grupos de cromatina condensada, también formando un fino anillo periférico.

El número de nucleolos que hemos observado en *Chlamys varia* es de 1 ó 2, siendo éste otro de los motivos de discrepancia con la caracterización de las Ovg y las Spg que realizan Lubet (1959) y Lucas (1965). Ambos diferencian estas células por su número de nucleolos, poseyendo 1 nucleolo las Ovg y 2 nucleolos únicamente las Spg. También De la Roche (2008) describe las Ovg de *Chlamys varia* con un único nucleolo. Allarakh (1979) observa generalmente un único nucleolo en las Ovg de *Aequipecten opercularis*, igual que Dorange *et al.* (1989), Dorange & Le Pennec (1989) en *Pecten maximus* y Cole (1942) en *Ostrea edulis*.

Dentro de los folículos, las Ovg en *Chlamys varia* aparecen en pequeños grupos de 2-3 células juntas, adosadas a la pared folicular por su eje mayor, o bien paralelas a ella, de

forma similar a como aparecen las Ovg de *Crassostrea virginica* descritas por Galtsoff (1964).

Ovocito previtelogénico temprano (Ovpt) y ovocito previtelogénico (Ovp)

La talla de los ovocitos previtelogénicos en *Chlamys varia* es mayor que la de las Ovg (**9,28 μm vs. 4,96 μm**), pero ambos valores son inferiores a los 10-12 μm obtenidos por De la Roche (2008) y Lucas (1965), o a los 12,5-15 μm descritos en *Aequipecten opercularis* por Allarakh (1979). Quizás, esta discrepancia se deba a la dificultad en identificar un ovocito previtelogénico temprano, que es el momento en el que queda frenado en diacinesis de la meiosis I; si no se identifica bien, se confunde con una ovogonia. Un marcador para hacer bien esta identificación es el aumento de tamaño de su nucleolo en relación con el tamaño del nucleolo, o nucleolos, de la ovogonia.

La morfología de estos ovocitos en *Chlamys varia*, al igual que en el caso de las Ovg, es variable, y esta variación se relaciona con el estadio meiótico en que se encuentren, como describen en la especie *Pecten maximus* Dorange *et al.* (1989) y Beninger & Le Pennec (1991).

La relación núcleo-citoplasma disminuye progresivamente a medida que se van desarrollando los ovocitos de *Chlamys varia*, resultados comparables a los obtenidos por De la Roche (2008). El núcleo de los ovocitos de *Chlamys varia* aumenta durante la ovogénesis, presentando una talla en los previtelogénicos de **4,77 \pm 0,41 μm** de diámetro. Al mismo tiempo, la cromatina se va dispersando, como señalan Lucas (1965) y Allarakh (1979). Ambos autores observan mayores tallas nucleares en los ovocitos previtelogénicos. Lucas (1965) describe núcleos de 6 μm en *Chlamys varia* y Allarakh (1979) de 7,5-10 μm en los Ovp de *Aequipecten opercularis*. Los ovocitos previtelogénicos de *Chlamys varia* se diferencian principalmente por su gran tamaño y por el color rosa brillante de su nucleolo o doble nucleolo, que también los tienen. El tamaño del nucleolo aumenta respecto a las Ovg y esto se debe a la producción de ribosomas necesarios para la síntesis de proteínas para el vitelo. Los nucleolos miden **1,49 \pm 0,14 μm** de diámetro, valor semejante al obtenido por Lucas (1965).

En las especies *Chlamys varia* y *Aequipecten opercularis*, los resultados obtenidos, en general, tanto en tallas celulares como en relaciones entre estructuras celulares son comparables. Sin embargo Allarakh (1979) describe el nucleolo de *Aequipecten opercularis* con un tamaño de 3-4 μm , muy superior al observado en *Chlamys varia*.

Los **ovocitos previtelogénicos tempranos** (Ovpt) de la *Chlamys varia* comienzan a presentar **cuerpos de Balbiani** con ubicación yuxtaperinuclear, que se observan con mayor frecuencia en los ovocitos previtelogénicos (Ovp), y **células auxiliares** adosadas en la región de la membrana del ovocito orientada hacia el lumen folicular. Presumiblemente, estas células auxiliares son una diferenciación de uno de los tipos de fibroblastos que estaban presentes en la masa celular conjuntiva durante la gonadogénesis. Se opina que la función de estas células auxiliares durante la gametogénesis es nutritiva, transfiriendo nutrientes desde las células de reserva y el sistema hemolinfático hasta las células germinales. (Motavkine & Varaksine, 1983; Dorange & Le Pennec, 1989; Avendaño & Le Pennec, 1998; Calvo *et al.*, 1998; Chung *et al.*, 2005). Nosotros opinamos que también participan en la formación de la envoltura vitelina del ovocito.

Ovocito vitelogénico joven (OvVj)

Es el ovocito que está comenzando a producir el **vitelo**, y para ello acumula sustancias de reserva fundamentales como proteínas, glúcidos y lípidos. Paulet (1990), en *Pecten maximus*, lo denomina “ovocito inmaduro” y Lucas (1965) “ovocito adherido”. La talla del OvVj en *Chlamys varia* es muy superior a la del Ovp, tal como lo señala De la Roche (2008). Los ovocitos vitelogénicos jóvenes se encuentran adosados a la pared folicular por su eje mayor, todavía no tienen pedúnculo o están levemente pedunculados, y comienzan a formar la **envoltura vitelina** (EV). La relación núcleo-citoplasma disminuye hasta valores cercanos a 0,5 a medida que el citoplasma se llena de vitelo, resultados similares a los obtenidos por De la Roche (2008) en la misma especie ($0,51 \pm 0,03 \mu\text{m}$). Finalmente, señalar también que el OvVj de *Chlamys varia* puede tener cuerpos de Balbiani.

Ovocito vitelogénico tardío (OvVtd)

Este ovocito puede estar pedunculado, a punto de desprenderse de la pared folicular o ubicarse libre en el folículo. Su crecimiento es rápido, la parte distal aumenta y se redondea hacia el lumen. La relación núcleo-citoplasma sigue una progresiva disminución, el núcleo y nucleolo decrecen. Presenta una EV ancha en comparación con otros bivalvos (resultados de nuestro grupo de trabajo) y transparente, pudiéndose observar en su interior los repliegues de la membrana celular. Puede presentar cuerpos de Balbiani, pero su frecuencia es baja. Se ha observado que a medida que los OvVtd se desprenden de la pared del folículo, también desaparecen las células auxiliares. Sin embargo, no se han apreciado figuras de endocitosis en las zonas de unión entre el OvVtd y las células auxiliares adosadas, como señalan Dorange *et al.* (1989) en *Pecten maximus*.

Ovocito postvitelogénico (Ovptv)

Este ovocito ha finalizado la vitelogénesis, pero continúa detenido en su primera frenada meiótica, en la diacinesis de la meiosis I. Es el ovocito desprendido de la pared folicular y libre en el lumen del folículo. Este ovocito alcanza la talla máxima de los ovocitos en la gónada de *Chlamys varia* ($46,35 \pm 2,54 \mu\text{m}$ de diámetro). De acuerdo con este resultado, Velasco (2008) señala que los ovocitos maduros de los pectínidos durante el desove son esféricos, diploides, presentan un tamaño de 40-60 μm y son numerosos, confirmando también lo sugerido por Verdonk (1984). En consecuencia, se puede decir que *Chlamys varia* tiene unos ovocitos postvitelogénicos que se encuentran dentro de la talla media general de los ovocitos maduros de los bivalvos, y específicamente de los pectínidos. Valores semejantes, entre 50-70 μm , han sido citados por Reddiah (1962), y valores inferiores, 45-50 μm , por Lucas (1965). Sin embargo, los datos aportados en este trabajo son inferiores al tamaño de $73,68 \pm 2,56 \mu\text{m}$ descrito por De la Roche (2008) o los 65-70 μm señalados por Le Pennec (1978). Otros investigadores han descrito tallas ovocitarias mayores en otras especies, como en *Pecten maximus*, donde Dorange *et al.* (1989) observaron ovocitos postvitelogénicos de 65-70 μm ; Paulet (1990) valores entre 70-75 μm , y Mason (1958) entre 60-90 μm de diámetro; en *Pecten jacobaeus* donde los ovocitos maduros midieron 60-70 μm (Micarelli *et al.*, 1994); en *Chlamys hastata* (Hodgson & Burke, 1988), donde los ovocitos liberados tenían una talla de 70 μm de diámetro; o en *Crassostrea virginica*, con una longitud de 55-75 μm y una anchura de 35-55 μm (Galtsoff, 1964).

Esta importante diferencia de tamaño de los ovocitos postvitelogénicos probablemente dependa del momento en el que se realizan las mediciones ovocitarias, ya que los Ovptv en el interior de los folículos gonadales adquieren en ocasiones forma poligonal, debido

a la abundancia de ovocitos y a la presión ejercida entre ellos dentro del folículo. Sin embargo, una vez liberado, el ovocito se hincha ligeramente, pasando de forma poligonal a forma esférica, y aumenta su talla (Román & Pérez, 1976). Por este motivo, autores como Amirthalingam (1928) y Allarakh (1979) encontraron gran variabilidad entre las medidas de los Ovptv de *Aequipecten opercularis* antes y durante la puesta, variando entre los 50-70 μm en estado poliédrico y los 60-80 μm durante la puesta.

La relación núcleo-citoplasma se mantiene ($0,53 \pm 0,03 \mu\text{m}$). Son células con un núcleo en el que se observa por primera vez la presencia de los **cromosomas diacinéuticos** (crmD), que se tiñen de rojo con tinción tricrómica. No poseen nucleolo o es muy pequeño y, además, comienzan a sufrir rotura de la vesícula germinal (GVBD). Poseen gran cantidad de vitelo en el citoplasma y pueden observarse gránulos de vitelo en diferente estado de desarrollo. Hay pequeños gránulos corticales de color marrón-rojizo en la parte más periférica de los Ovptv y alineados con la membrana celular, que evitarán la polispermia a la hora de ser fertilizados los ovocitos. En la EV se observan los pliegues de la membrana celular. De igual forma, en los Ovptv de *Pecten maximus*, Dorange *et al.* (1989) y Dorange & Le Pennec (1989) observan la vesícula germinal con contorno irregular, con cromatina dispersa, finamente granulada y numerosos poros nucleares. También describen numerosos gránulos en la periferia y abundante vitelo con inclusiones de glucógeno. En algunos Ovptv de *Chlamys varia* todavía se observan cuerpos de Balbiani en el citoplasma periférico al núcleo, así como total ausencia de células auxiliares adosadas. El ovocito, además de la transmisión del material genético, contribuye, por medio del vitelo de su citoplasma, como fuente energética para un desarrollo embrionario adecuado.

Con este estudio, se confirma también la existencia de un polimorfismo en los ovocitos y en los espermatozoides de *Chlamys varia* durante la gametogénesis, dependiendo del estado de desarrollo gonadal, tal como señala también Wilczynski (1959) en la especie *Crepidula fornicata*.

Estructuras ovocitarias que se forman durante la ovogénesis

a) Envoltura vitelina (EV)

El grosor de la EV es muy variable entre las diferentes especies de bivalvos (Dorange & Le Pennec, 1989). La formación de la EV en *Chlamys varia* comienza en los ovocitos vitelogénicos jóvenes de mayor talla, que contienen algo de vitelo y se sitúan adosados en las paredes foliculares según su eje mayor. La envoltura vitelina empieza siendo una estructura muy fina, y progresivamente va adquiriendo anchura hasta alcanzar un espesor de **3 μm** . El espesor de la EV en *Chlamys varia* es mayor que en otros moluscos, como es el caso de *Aequipecten opercularis* (resultados de nuestro grupo de trabajo), *Crassostrea virginica*, con un valor medio de 0,9 μm , y *Haliotis varia*, con un valor de 2,3 μm (Najmudeen, 2008). Por el contrario, Dorange & Le Pennec (1989) obtuvieron un mayor espesor de la EV en *Pecten maximus*, llegando a alcanzar los 5-6 μm , y en algunos ovocitos de *Chlamys hastata*, Hodgson & Burke (1988) observan una EV de 65 μm de espesor.

Según Mestre (1992), la naturaleza de la EV es mucopolisacárida, y opinamos que su formación en los ovocitos de *Chlamys varia* es un buen marcador o guía del desarrollo ovocitario, ya que el desarrollo de la EV y la vitelogénesis parecen ser dos procesos correlacionados. Mestre (1992) ya señala la formación de la EV (glycocálix) durante la

vitelogénesis en la especie *Pecten jacobaeus*, observando que inicialmente rodea a las células auxiliares y progresivamente al ovocito. En este estudio, se ha observado que, a medida que aparece la EV, se produce la desaparición de las células auxiliares adosadas a los ovocitos, sugiriendo que dichas células auxiliares son las que proporcionan los productos necesarios para la formación de la EV. Esta hipótesis es también señalada por Dorange & Le Pennec (1989).

En algunas especies, la EV rodea al ovocito sin fertilizar y es eliminada por los ovocitos cuando todavía se encuentran en la gónada. Sin embargo, Raven (1958) señala que en otros casos (*Ostrea*, *Mytilus*, *Dreissensia* o *Dentalium*) la EV es eliminada una vez que los ovocitos son liberados al mar. En las muestras analizadas en este estudio sobre *Chlamys varia*, todos los ovocitos postvitelogénicos todavía presentaban la EV. Nosotros opinamos que los ovocitos no pierden la EV, y que incluso en la fertilización el espermatozoide tiene que atravesarla; y esto es así, porque la segmentación y parte de la gastrulación del cigoto ocurren estando el embrión rodeado por la EV, que sirve de contención y protección a las células del embrión. Es el embrión quien abandona la EV, rompiéndola y saliendo a través de ella, durante la gastrulación. La EV es una estructura ovocitaria que, variando su composición bioquímica, se ha conservado en la evolución; esta estructura también existe en vertebrados, pero aquí recibe el nombre de **membrana pelúcida**; y también en vertebrados, el espermatozoide tiene que atravesar la membrana pelúcida para fertilizar al ovocito.

b) Cuerpos de Balbiani (CB)

En la mayoría de las especies animales, las células germinales se separan del soma muy pronto en el desarrollo embrionario. Esta diferenciación se debe a la adquisición de un determinante de la línea germinal, que se denomina plasma germinal, plasma polar, polo plasmático, ovosoma o nube (Kloc *et al.*, 2004). Las estructuras específicas de la línea germinal son muy variables entre taxones, pero en general presentan ciertas similitudes. En muchas especies los gránulos germinales comienzan siendo pequeños parches, nubes de material acopladas a la membrana nuclear, cuyos componentes en muchos casos atraviesan los poros nucleares. Por este motivo, es probable que parte de los componentes de la nube se originen en el núcleo, aunque en gónadas que presentan células auxiliares asociadas a los ovocitos, también es probable la implicación de éstas en la producción de nutrientes y de material electrodenso.

La nube se rodea de mitocondrias, sugiriendo el intercambio de componentes entre las organelas y/o la entrega de energía necesaria para el movimiento (Guraya, 1979). Kloc *et al.* (2004) sugieren que el contacto entre la nube y los centriolos aumenta las posibilidades de que los centriolos participen en la organización espacial de los componentes del plasma germinal. Las proteínas y los ARNm-vasa, las proteínas de unión del ARN y los reguladores de translación son componentes comunes en las nubes de la mayoría de los animales. Los gránulos germinales sufren entonces un ciclo de agregación, dispersión y nueva agregación durante su movimiento hacia la corteza vegetal del ovocito durante las divisiones embrionarias. Ya en el embrión, son segregados en los blastómeros y células germinales iniciales (Kloc *et al.*, 2002). Este ciclo es imprescindible para producir el transporte y el anclaje de los gránulos en la corteza del ovocito y su segregación.

En los diferentes organismos se dan distintas vías de transporte de los gránulos hasta la corteza: bien por separado o bien envueltos en organelas formando los **cuerpos de Bal-**

biani. Posteriormente, los constituyentes de los cuerpos de Balbiani se dirigen hacia el polo vegetal del ovocito y, probablemente, allí participan en la formación del plasma germinal (conjunto de factores determinantes de la línea germinal).

En este estudio se han observado cuerpos de Balbiani en los ovocitos de *Chlamys varia*. Estos cuerpos son marcadores de la línea germinal y están compuestos por agregados de organelas: principalmente mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplasmático, aunque también puede contener centriolos, ribosomas libres e inclusiones lipídicas. Los agregados se manifiestan con mucha claridad en los **ovocitos previtelogénicos** de *Chlamys varia* y, posiblemente, tal como describe Pepling (2007) en el ratón, se dispersan por el citoplasma en los ovocitos postvitelogénicos.

Los cuerpos de Balbiani fueron observados por primera vez en los ovocitos de las arañas por von Wittich en 1845 y denominados núcleos vitelinos. Posteriormente, fueron estudiados en profundidad por E. G. Balbiani entre los años 1864-1893 en ovocitos de miriápodos y arañas. Fue en 1887 cuando adquirieron el nombre de cuerpos (vitelinos) de Balbiani (Bb), aunque también se denominan masas mitocondriales, nubes, núcleos vitelinos, complejos vitelinos del núcleo o cuerpos vitelinos (Guraya, 1979). Han sido descritos en la línea germinal femenina de moluscos como *Crassostrea virginica* (Galtsoff, 1964), *Crassostrea gigas* (Parvinen, 2005; Franco, 2008) y *Haliotis varia* (Najmudeen, 2008).

La morfología, tamaño, ubicación citoplasmática y persistencia de los cuerpos de Balbiani se relaciona con la especie y duración de la ovogénesis. En organismos con ovogénesis larga, los componentes del plasma germinal deben estar protegidos y para ello se forman los cuerpos de Balbiani. Por el contrario, si la ovogénesis tiene poca duración, no dispone del tiempo suficiente para formar los cuerpos de Balbiani y el movimiento de los gránulos germinales se realiza de manera individual. En el género *Xenopus* la forma de los cuerpos de Balbiani en las Ovg y principios del estadio I del desarrollo gonadal, es arriñonada u ovalada, mientras que en los ovocitos primarios al principio del paquitenio de la meiosis I es esférica. De igual forma, en *Chlamys varia* presentan forma de barra o media luna, y con frecuencia son 2 cuerpos.

La localización de los cuerpos de Balbiani es bastante estable y semejante en todas las especies. Durante la ovogénesis de *Chlamys varia* se encuentran adheridos a la membrana nuclear en la zona perinuclear del citoplasma. Pepling *et al.* (2007) sugieren una localización de los cuerpos de Balbiani siempre asimétrica hacia un lado del núcleo, ya que se organizan rodeando un par de centriolos y el fusoma (estructura vesicular específica de la línea germinal).

Las funciones de los componentes organelares y moleculares que constituyen los cuerpos de Balbiani son objeto actual de investigación y se van revelando paulatinamente. Cox & Spradling (2003) postulan que los cuerpos de Balbiani son responsables de la acumulación, maduración y translocación de las macromoléculas (ARNm y proteínas) y organelas (mitocondrias y gránulos) implicadas en la especificidad de la línea germinal hacia el polo vegetal del ovocito; actuarían así como estructuras de transporte. En estudios más recientes, Kloc *et al.* (2008) sugieren también que la actuación de los cuerpos de Balbiani es determinante de la polaridad del ovocito, siendo dicha polaridad la que dicta el patrón de la segmentación del futuro embrión.

Recientemente Marlow (2008) ha descubierto en el pez cebra el gen Bucky ball, que es el primer gen relacionado con el ensamblaje de las organelas que componen los cuerpos de Balbiani, y que genera la polaridad ovocitaria y previene la polispermia. Este gen contiene, según Pepling (2007), la proteína “trailer hitch”, que está relacionada con las vesículas de retículo endoplasmático y del Golgi, así como con el transporte de ARNm.

Atresia ovocitaria fisiológica

La atresia ovocitaria fisiológica es un fenómeno común en la ovogénesis de los pectínicos (Lucas, 1965; Peres, 1981; Motavkine & Varaksine, 1983; Beninger, 1987; Barber *et al.*, 1988; Epp *et al.*, 1988; Dorange & Le Pennec, 1989; Paulet, 1990; Lubet, 1991; Mestre, 1992; Micarelli *et al.*, 1994; Borzone, 2003; Cantillanez *et al.*, 2005), que suele ser frecuente en el ciclo reproductivo anual de estos animales (Allarakh, 1979; Pazos *et al.*, 1996). En este estudio se han observado también numerosos casos de atresia ovocitaria fisiológica durante el desarrollo de la gametogénesis de *Chlamys varia*, tanto en las diferentes estaciones del año como en los distintos estadios del desarrollo gonadal. Sin embargo, Paulet (1990) y Román & Acosta (1991) observaron una mayor intensidad de atresia durante el periodo estival en *Pecten maximus*, mientras que Dorange & Le Pennec (1989) señalan la máxima cantidad de atresia 2-3 semanas antes de la puesta. Por otro lado, Najmudeen *et al.* (2008) observaron que la atresia se produce en casi todos los estadios gametogénicos de *Haliotis varia*, excepto en las ovogonias y en los ovocitos previtelogénicos.

La atresia observada en *Chlamys varia* en este trabajo afectó a un único folículo, a varios folículos o bien a la gónada completa, e incluso se comprobó su aparición en el interior de los gonoductos. En esta especie, la atresia no solamente afecta a aquellos ovocitos residuales que permanecen en los folículos tras la puesta, como señalan Paulet & Boucher (1991), sino que se ha observado este proceso tanto en los **ovocitos postvitelogénicos** como en los **ovocitos previtelogénicos** que no llegan a iniciar la vitelogénesis. Opinamos que puede haber dos causas que producirían atresia fisiológica de los **ovocitos postvitelogénicos**: **a)** la ausencia de una señal de puesta, y **b)** la incapacidad bioquímica de los ovocitos de reanudar la meiosis; y otras dos causas para el caso de los **ovocitos previtelogénicos**: **a)** un problema bioquímico de coordinación entre la primera frenada meiótica del ovocito y el inicio de la vitelogénesis, y **b)** que estos ovocitos devengan atrésicos por un error en el proceso meiótico que provoque su aborto, coincidiendo en este punto con Hunt & Hassold (2002).

El desarrollo de la atresia ovocitaria sigue un proceso de evolución semejante en las diferentes especies. Comienza con la distensión del retículo endoplasmático, le sigue la rotura de la membrana nuclear y continúa con la desaparición de la membrana celular. A continuación, se produce la vacuolización de la periferia del ovocito, la rotura de la EV y el vaciado en el lumen folicular y, finalmente, concluye con la fagocitosis de los productos residuales de los ovocitos por parte de los hemocitos (Suárez *et al.*, 2007). Se ha apreciado toda esta serie de pasos en la evolución de la atresia ovocitaria en *Chlamys varia*, aunque, con la diferencia de que los restos celulares de los ovocitos degenerados pueden ser evacuados a través de los gonoductos o bien pueden reabsorberse, no siendo tan frecuente en esta especie la aparición de grandes masas hemocitarias.

Dorange *et al.* (1989), analizando la atresia en la especie *Pecten maximus*, diferencian dos estadios dentro de los ovocitos atrésicos: con presencia de necrosis esencialmente periférica, y con necrosis generalizada. También Cantillanez *et al.* (2005) describen

diferentes grados de atresia, dependiendo del índice de condición gonadal (ICG) y de la madurez ovocitaria, en la especie *Argopecten purpuratus*. Sin embargo, estas diferencias atrésicas no se han observado en los ovocitos de la *Chlamys varia*.

Además de nuestra opinión -expresada más arriba- acerca de las causas de la atresia ovocitaria, otros autores han propuesto las siguientes explicaciones:

- La atresia se produce como respuesta ante condiciones ambientales desfavorables que afectan a la viabilidad de la puesta (Paulet, 1990); sobre todo cuando las temperaturas se aproximan a la temperatura letal para la especie o existen graves limitaciones en los requerimientos nutricionales. Suárez *et al.* (2007) señalan la influencia de estos factores ambientales (temperatura y alimento disponible) en la atresia ovocitaria de *Mytilus galloprovincialis*.
- El fenómeno de atresia tiene lugar con el fin de llevar a cabo la limpieza y preparación de la gónada para una nueva maduración, siendo éste un mecanismo de control del número de células óptimo de los folículos.
- La atresia es un proceso que se da tras la puesta, como un medio de obtención de energía reabsorbiendo los ovocitos foliculares sobrantes. Según esta tercera explicación, este proceso aportaría los metabolitos necesarios para el desarrollo de las nuevas cohortes de gametos, así como la energía necesaria para llevar a cabo el metabolismo general en situaciones de déficit energético (Allarakh, 1979; Dorange & Le Pennec, 1989; Beninger & Le Pennec, 1991; Strand & Nylund, 1991; Duinker & Nylund, 2002; Suárez *et al.*, 2005).

Según nuestros resultados, opinamos que parece como si los ovocitos de *Chlamys varia* que han llegado al estado de madurez tuviesen un límite de vida en la gónada, y que si no hay una señal positiva de puesta, deviniesen en atrésicos. Esto hace pensar en la dificultad de coordinación del animal entre la maduración ovocitaria y la señal de puesta, o de la activación del sistema endógeno que induce a que se produzca la puesta. Da la sensación, en definitiva, de que *Chlamys varia* no es eficiente en cuanto a mantener durante tiempo la viabilidad de los ovocitos maduros producidos para la fecundación y, en consecuencia, si no se produce la puesta devienen atrésicos progresivamente; es como si existiese una falta de coordinación entre el alcance de la madurez de los ovocitos y el disparo del proceso que provoca y sustenta la puesta. Además, también se produce atresia de los ovocitos previtelogénicos y, como ya se expuso, opinamos que es debido a un fallo en la coordinación bioquímica entre la primera frenada meiótica del ovocito y el inicio de la vitelogénesis. En conjunto, observamos que en *Chlamys varia*: **a)** hay una falta de ajuste en la coordinación entre la bioquímica de la meiosis y la de la vitelogénesis; **b)** el molusco no puede mantener la viabilidad de los ovocitos maduros durante tiempo en la gónada.

La lisis ovocitaria está relacionada con la estrategia reproductiva de cada especie. En algunos pectínidos, como *Pecten maximus*, los ovocitos son viables durante poco tiempo, por lo que si no son liberados, se produce la lisis ovocitaria reutilizándose los nutrientes del vitelo. De esta forma se optimiza el proceso reproductivo cuando las condiciones no son favorables para el desove (Dorange, 1989; Lubet *et al.*, 1991). También en *Chlamys varia*, como se ha comentado anteriormente, los ovocitos parecen tener una vida media definida de permanencia en la gónada.

En este estudio, tal como describen Dorange (1989) y Lubet *et al.* (1991), se ha observado atresia tanto en los folículos como en los gonoductos de *Chlamys varia*.

Diferentes investigadores han sugerido que el fenómeno de atresia también sucede en los espermatozoides (Dorange, 1989; Darriba, 2001; Suárez *et al.*, 2007), siendo menos evidente que la atresia ovocitaria debido al pequeño tamaño de los gametos masculinos. Suárez *et al.* (2007) describieron mejillones macho de la especie *Mytilus galloprovincialis* con grandes masas de hemocitos en el interior y exterior de los folículos y también en los gonoductos, coincidiendo con los periodos de atresia ovocitaria. Sin embargo, en el presente estudio no se han observado casos de atresia en las series gametogénicas masculinas de *Chlamys varia*, posiblemente porque: **a)** en la meiosis de los espermatocitos primarios no hay frenadas ni reanudaciones de la meiosis; **b)** no ocurre el proceso de vitelogénesis y, por tanto, no hay que coordinar bioquímicamente la vitelogénesis con la meiosis; **c)** hay menos abortos en la meiosis de los espermatocitos primarios que en la de los ovocitos primarios (Hunt & Hassold, 2002).

En general, se puede concluir este apartado diciendo que la atresia ovocitaria es de máxima importancia para llevar a cabo con éxito el proceso de la reproducción de los pectínidos, llegando a definirse en algunas especies (*Euvola zigzag*) como un estadio tras la maduración, denominado de “maduración y atresia”, en el que se observa que más de la mitad de los folículos muestran una fuerte atresia (Borzzone, 2003), que incluso puede conllevar dificultades en la producción artificial de semilla de esta especie (Cantillanez *et al.*, 2005).

4.4.3 Ciclo reproductor

4.4.3.1 Estadios del ciclo reproductor

Tanto en la fase sexual masculina como en la femenina de *Chlamys varia*, se ha observado la siguiente sucesión de estadios del ciclo de desarrollo de la gónada: GI (gónadogénesis inicial en juveniles), I, II, IIIA (IIIA1 y IIIA2), B y D, con la excepción de que este último estadio se observó únicamente en la fase sexual masculina. Los estadios I, II, IIIA y B, aunque definidos con mayor detalle, mantienen una estructura citológica semejante a la descrita por Lubet (1959) para esta misma especie. El estadio I se caracteriza por la organización de los folículos y por la multiplicación de las gonias (espermatogonias y ovogonias); el estadio II por el desarrollo gametogénico; el IIIA por constituir el estadio de maduración; y el B por la emisión de gametos. Sin embargo, no se observan estadios **C** ni **0** definidos para otros bivalvos; los estadios D son muy escasos y únicamente se observan en la fase sexual masculina. Finalmente, se define un nuevo estadio: **GI**, característico de la gonadogénesis y foliculogénesis inicial o primaria en individuos juveniles que hacen su primera gónada.

El hecho de que en este estudio no se haya observado el **estadio C** en el desarrollo gonadal de *Chlamys varia*, hace suponer que o bien no existe este estadio en esta especie y que se pase directamente desde los estadios B ó D al estadio I, o bien que el paso se realiza tan rápido que es difícil de apreciar. Allarakh (1979) también declara que el estadio C en la gónada de *Aequipecten opercularis* es un estadio difícil de diferenciar del estadio de puesta, en el que reaparece la red folicular y el color gonadal es más claro. Según este autor se observa ovogénesis y espermatogénesis, pero con mayor número de gametos residuales y ovocitos atrésicos.

De igual forma, tampoco se ha observado el **estadio 0** o de reposo reproductivo, en la evolución de la gónada de *Chlamys varia*. Comúnmente los ciclos reproductivos en los moluscos bivalvos incluyen un estadio de reposo tras la puesta, pero existen excepciones, como la especie *Pecten novaezelandiae* (Williams & Babcock, 2004) y, en este caso, *Chlamys varia*.

Chipperfield (1953) observa en *Mytilus edulis* un estadio 0, sin presencia de folículos y sin sexo distinguishable. Este estadio se adquiere tras una puesta, una vez que los gametos son reabsorbidos, perdiéndose por lo tanto cualquier tipo de distinción sexual. Las mismas observaciones hacen Mason (1958) y Paulet (1990) en la especie *Pecten maximus* durante el invierno.

Sin embargo, autores como Lubet (1959) y Lucas (1965) no están de acuerdo con esta definición y opinan que la indiferenciación absoluta de una gónada es algo muy extraño y poco habitual. Describen un estadio de reposo sexual en *Chlamys varia* caracterizado por el desarrollo de un tejido conjuntivo interfolicular, folículos que han disminuido su diámetro, paredes foliculares cubiertas de gonias, gonoductos en su máxima expansión, presencia de numerosas células vesiculares (VC) y gran afluencia de amebocitos que fagocitan los gametos residuales. Del mismo modo, Allarakh (1979) también observa un estadio 0 con similares características en la especie *Aequipecten opercularis*. En nuestro estudio no se observó el estadio 0 en la población de *Chlamys varia* tal como lo definen Lubet y Lucas, sino que una vez realizada la puesta se inicia un nuevo desarrollo gametogénico o bien se alcanza un estadio de agotamiento gonadal. Estos resultados sugieren una falta de definición clara de los estadios para esta especie o bien la presencia de diferencias interpoblacionales en *Chlamys varia*.

La aparición del estadio D ocurrió únicamente en un individuo bisexual con fase sexual masculina funcional (FSF♂, FS♀L) y se caracterizó por ser el estadio de agotamiento tras la puesta. Por lo tanto, se puede concluir que la gran mayoría de los individuos de *Chlamys varia* pasan desde el estadio B a los estadios I y II, ya que se produce un continuo relevo de cohortes de espermatogonias I y de ovogonias sin llegar a vaciarse totalmente la gónada. Es decir, existe un solapamiento entre la puesta avanzada y el comienzo de las mitosis y proliferaciones de las gonias, así como con el inicio de la reorganización gonadal. De la Roche (2008), sin embargo, observa con mayor frecuencia el estadio D en *Chlamys varia*, sobre todo al finalizar el verano y durante el otoño, pero de igual forma señala que a menudo este agotamiento se solapa con la reparación estructural de la gónada. Probablemente, la única diferencia entre este autor y los datos de este trabajo radica en la nomenclatura empleada. En este estudio, si la gónada no presenta un agotamiento estricto después de la puesta, la situación en que queda la gónada se considera un estadio B avanzado, que es aquél donde una vez finalizada la evacuación de los gametos, se mantiene la estructura folicular y las paredes foliculares presentan una población de gonias, aunque algunas regiones de la gónada sufran cierto deterioro.

Finalmente, se define un nuevo estadio, el estadio GI (gonadogénesis inicial), que es característico de la gonadogénesis y foliculogénesis iniciales o primarias en los individuos juveniles que hacen su primera gónada. Se trata de la gonadogénesis inicial de la gónada primaria, y se caracteriza por el comienzo de la producción de tejido conjuntivo en el espacio gonadal, la gonoductogénesis y la foliculogénesis, así como la aparición de las primeras células germinales (espermatogonias y/o ovogonias) en el juvenil. El

estadio GI se diferencia del estadio I porque el tamaño de la gónada es muy reducido y no se trata de una reorganización ni regeneración como señala Lubet (1959), sino de una formación primaria de los tejidos y estructuras gonadales. En el estadio GI puede comenzar a desarrollarse bien una **gónada mixta protándrica** (Gm), con fase sexual funcional masculina pero en la que se detecta también presencia de una fase sexual femenina latente (FSF♂, FS♀L), o bien una **gónada sólo femenina** (G♀), en la que únicamente se manifiesta la fase sexual femenina. Este estadio GI se asemeja a los conceptos de sexualidad juvenil y de fase sexual juvenil formulados por Coe (1943b).

4.4.3.2 Temporalidad del ciclo reproductor

La definición y clasificación de los estadios del ciclo reproductor de *Chlamys varia* permitió conocer la evolución en el porcentaje de cada uno de ellos en la población con relación al tiempo y, por consiguiente, poder determinar la temporalidad del ciclo reproductor de esta especie en las rías gallegas.

Durante el primer periodo reproductivo (PR1) se observaron dos etapas, una etapa de **gonadogénesis inicial** y otra de **estabilización**. En la etapa inicial se manifiestan claramente la espermatogénesis, la maduración y la “puesta fugaz” de la **fase sexual masculina** (FS♂) en los animales bisexuales (FSF♂, FS♀L), mientras que la ovogénesis en las hembras puras es más lenta; esta etapa dura **6 meses y medio**, se extiende desde octubre-2006 hasta mediados de marzo-2007 (otoño-invierno), y los moluscos la inician (en este estudio) con una edad de **8,5 meses** y la finalizan con **14 meses**. Al finalizar esta etapa de gonadogénesis inicial, se asienta la espermatogénesis de los bisexuales, y las hembras puras logran su plena capacidad de ovogénesis. Esta etapa de gonadogénesis inicial (GI), incluida dentro del primer periodo reproductivo (PR1), que en nuestro estudio dura **6 meses y medio**, y que para los individuos que se han fijado en primavera-verano comienza en el otoño y se extiende hasta mediados de marzo del año siguiente, Coe (1943b) la denomina **gónada juvenil** o **gónada primaria temprana** y no la contabiliza como un periodo reproductivo en sí mismo, sino que dice que estos animales detienen el desarrollo de esta gónada durante el invierno y la reanudan la primavera del siguiente año, que es cuando hacen la gónada primaria en firme y, entonces, este desarrollo de la gónada sí lo contempla como periodo reproductivo, siendo entonces el primer periodo reproductivo y la gónada sería la gónada primaria; en este momento los animales tendrían **un año**. Por tanto, y coincidiendo con Coe, esta gonadogénesis inicial que nosotros encontramos en *Chlamys varia* es una **gónada juvenil** de desarrollo corto, anterior e incluida dentro de la gónada primaria y, por ello, también se la puede denominar **gónada primaria temprana**. Lo que nosotros denominamos “estabilización de la gónada primaria”, y que ocurre a partir del inicio de la primavera, es lo que Coe (1943b) denomina “reanudación de la gametogénesis en la gónada primaria”; por tanto, este comportamiento sexual de *Chlamys varia*, en cuanto a la formación de la gónada primaria, encaja en la formulación que hace Coe (1943b) de los conceptos de gónada juvenil y de gónada primaria para algunas especies de moluscos pelecípodos bisexuales (ambisexuales). Nuestros resultados indican que esta gónada inicial, juvenil o temprana: **a)** produce una fase sexual funcional masculina que, aunque lo hace en una cantidad pequeña, produce espermatozoides que el animal descarga, no se ha observado reabsorción de espermatozoides; **b)** simultáneamente, desarrolla una fase sexual hembra latente, con presencia de ovogonias y de ovocitos previtelogénicos que no continúan su desarrollo.

A partir de la etapa de estabilización de este primer periodo reproductivo ocurren los ciclos reproductivos estables, completos y anuales de los animales bisexuales y de las hembras puras. En ellos, los **individuos bisexuales** desarrollan la FSF♂, quedando latente la FS♀, y las **hembras puras** desarrollan su FS♀.

Los estadios I y II, que dan comienzo al desarrollo gametogénico, se llevan a cabo durante la estación invernal y finalizan a principios de primavera, en un corto periodo de tiempo, como señala Lubet (1959) para esta especie en las costas francesas, pero algo más extenso que lo observado por De la Roche (2008) en las costas gallegas, que describe estos estadios únicamente durante la estación invernal.

El periodo de maduración-madurez (IIIA1-IIIA2) se extiende desde la primavera hasta el invierno, pero su frecuencia en la población es mayor durante la primavera y principios de verano. De la Roche (2008), denomina a este periodo como “de intensa maduración” y Lubet, (1959) señala que en las costas francesas se lleva a cabo un poco después, coincidiendo con los meses de junio y julio.

Las puestas de la población (estadio B) se entrelazan con los estadios de maduración, y abarca también un extenso periodo de tiempo, pero existen tres tramos donde la frecuencia de puestas es mayor, que son: principios de primavera, verano y otoño. Los dos primeros tramos fueron señalados también por De la Roche (2008) en la misma especie, y valores máximos de puesta en verano-otoño fueron descritos por Lubet (1959) en Francia.

La mayoría de las puestas son parciales, ya que únicamente en un caso se observa el agotamiento total tras la puesta (estadio D), en el mes de noviembre. Por otro lado, las puestas van acompañadas seguidamente de la generación de nuevas cohortes a partir de las gonias, que se mantienen en las paredes foliculares, sin pasar por un estadio 0 ó de reposo reproductivo.

En este estudio, al igual que lo han señalado Shafee & Lucas (1980), se ha observado que los ciclos de puesta de los animales en la población no están sincronizados, ya que muchos de los individuos que componen la población se encuentran en diferentes estadios de desarrollo gametogénico. Por lo tanto, *Chlamys varia* presenta una asincronía interindividual, que conlleva que se pueda reproducir durante un largo periodo del año, al igual que habían señalado previamente otros autores (Pazos *et al.*, 1996; Canales, 1998; Román *et al.*, 2000, 2001). De hecho, Williams & Babcock (2004) proponen la posibilidad de que, tanto la variabilidad en la talla como en la condición gonadal de los individuos de una misma población de pectínidos, sean resultado de repetidas puestas durante una estación. Por el contrario, Paulet (1990) señala un fuerte sincronismo interindividual en *Pecten maximus* en la bahía de St. Brieuc (Francia).

En este trabajo, se confirma también la existencia de una asincronía temporal en el desarrollo gametogénico en diferentes zonas de la gónada de *Chlamys varia* cultivada en las rías gallegas, tal como señala De la Roche (2008), ya que fue frecuente el solapamiento de varios estadios del ciclo reproductor en una misma gónada. De igual forma, Cole (1942) observó, en *Ostrea edulis*, que la foliculogénesis presenta distinto grado de desarrollo en diferentes zonas de la gónada.

Se ha declarado que en la mayoría de los bivalvos, la madurez sexual depende del tamaño del animal más que de su edad (Helm & Bourne, 2006). También se ha informado que entre los pectínidos de interés comercial en Galicia (*Chlamys varia*, *Aequipecten opercularis*, y *Pecten maximus*), *Aequipecten opercularis* es el pectínido más precoz, ya que alcanza la madurez sexual en menos de **4 meses**, con una talla aproximada de **20 mm**. A continuación le sigue *Chlamys varia*, que alcanza la madurez con una talla cercana a los **27 mm**, y finalmente *Pecten maximus* con una talla aproximada a los **56 mm** (Acosta & Román, 1994).

Sin embargo, en este estudio se ha observado que la maduración de las **fases sexuales** de *Chlamys varia* presenta una separación en el tiempo. Mientras que la madurez de la **fase sexual femenina** (FS♀) se alcanza a los **16,5 meses**, con una altura media de la concha de **25 mm**, valor muy próximo al señalado por Acosta & Román (1994), la **fase sexual masculina** (FS♂) alcanza la primera madurez sexual mucho antes, a los **8-9 meses** de edad, con una altura media de la concha de **15 mm**, pero es posible que la maduración comience incluso antes, siendo ésta una **maduración fugaz** que desencadena rápidamente la puesta. Estos resultados discrepan de la idea señalada por Helm & Bourne (2006), quienes afirman que cuando el molusco alcanza la madurez sexual, su gónada es fácil de ver y ocupa la mayor parte del cuerpo blando del animal. Pues, según nuestro estudio, ocurre que en el caso de *Chlamys varia*, y en los individuos bisexuales que hacen su primera gónada, durante la madurez de la FS♂ el tamaño de la gónada es muy reducido y ésta maduración no es fácil de identificar a menos que se utilicen métodos histológicos y microscopía óptica.

4.4.4 Fases sexuales, clases sexuales y cambio de sexo

En este trabajo se ha observado, por un lado, que en el desarrollo de la gónada inicial en los individuos juveniles de *Chlamys varia* que hacen su primera gónada, la gran mayoría de las zamburiñas (65%) son **bisexuales (ambisexuales) e intersexuales**, con fase sexual funcional masculina y fase sexual femenina latente (FSF♂, FS♀L). Por otro lado, que las **hembras puras** (dioicas) representan un 30% del total, y que no hay zamburiñas dioicas que sean **machos puros** (♂). Finalmente, se ha determinado que el proceso de cambio de sexo (CS) tiene lugar ya desde el primer periodo reproductivo (PR1) y afecta al 4% de las zamburiñas.

Se observa por primera vez en los animales bisexuales, que hacen su primera gónada en su primer periodo reproductivo, una variación cuantitativa en la dotación de las series gametogénicas masculina y femenina en la gónada. Aunque el animal es un macho funcional, la FS♀ no es totalmente latente, únicamente está retrasada con respecto a la FS♂, y lo más frecuente es que la dotación de las series gametogénicas masculinas sea mayor que la dotación de las series gametogénicas femeninas. Únicamente en un reducido número de bisexuales (1%), se ha observado un grado de desarrollo próximo de la FS♂ y la FS♀.

Acorde a estos resultados, y adoptando la clasificación de **tipos de sexualidad** de moluscos elaborada por Coe (Coe, 1943b), opinamos que la población de *Chlamys varia* estudiada tiene una sexualidad **consecutiva protándrica**. Otros autores han tipificado la sexualidad de esta especie como **hermafrodita protándrica secuencial** (Lubet, 1959; Policansky, 1982), pero disintimos de esta opinión. Aumentando la información que para *Chlamys varia* proporcionan estos autores, nuestros resultados permiten profundi-

zar en la estructura sexual de la especie -al menos de la población estudiada- en **clases sexuales**. Esta profundización consiste en que de nuestros resultados extraemos que: **a)** no todos los individuos de la especie son **bisexuales (ambisexuales)**; **b)** hay individuos **ambisexuales**, y estos individuos se comportan siempre como machos funcionales, o sea, tienen una fase sexual masculina funcional y una fase sexual femenina latente; **c)** hay individuos que son **hembras puras**; y **d)** no hay individuos que sean **machos puros**, es decir, los individuos que en la población actúan como machos siempre tienen una fase sexual femenina en su gónada, aunque esta fase no es activa sino que es latente. Además, con la gónada primaria (G1) de la zamburiña también se ha podido validar la hipótesis sobre la prevalencia de la protandria propuesta por Coe (1943b), que señala que en general los ovocitos no maduran hasta que se haya producido alguna descarga de los espermatozoides.

En el desarrollo de la gónada secundaria de la zamburiña se iguala el porcentaje de animales que son **hembras puras** (49%) al de animales que son **ambisexuales (bisexuales)** (49%) con funcionalidad macho, debido a los cambios de sexo que han tenido lugar durante el desarrollo de las diferentes cohortes en el primer periodo reproductivo. Estos datos confirman lo propuesto por Lubet (1959) y Shafee & Lucas (1980), que señalan que con el aumento del tamaño y/o edad de los ejemplares decrece el número de machos en *Chlamys varia*. De igual manera ocurre en las especies *Annachlamys flabellata*, *Comptopallium radula* o *Mimachlamys gloriosa* descritas por Lefort & Clavier (1994), y en *Crepidula fornicata* (Wilczynski, 1959). Según Hoagland (1978), esto se debe probablemente a que las hembras grandes suelen producir más huevos que las hembras pequeñas, mientras que incluso los machos más pequeños pueden producir grandes fecundidades.

Además, aunque se observa un ligero descenso en el porcentaje de zamburiñas en cambio de sexo en el segundo periodo reproductivo (PR2) (1%) con respecto al PR1 (4%), es necesario señalar que este estudio no abarcó la totalidad del PR2, con lo cual es posible que se mantenga el porcentaje de animales en cambio de sexo durante el segundo periodo reproductivo.

Varios estudios han intentado determinar el momento y la talla del cambio de sexo en los hermafroditas consecutivos y alternativos (Charnov, 1982; Collin, 1995; Charnov & Skúladóttir, 2000; Muñoz & Warner, 2003; Gardner *et al.*, 2005). Según Ghiselin (1969), existen dos modelos diferentes para explicar el cambio de sexo:

1. Modelo de “ventaja según la talla”, que consiste en la adquisición del sexo más ventajoso dependiendo de la talla del animal.
2. Modelo de “dispersión de genes”, que presenta dos variantes:
 - La versión endogámica, que defiende la producción de los hermafroditas secuenciales para prevenir la autofecundación.
 - La versión prueba-error, que señala la producción de los hermafroditas secuenciales cuando las poblaciones son pequeñas, aisladas y hay un exceso de uno de los sexos.

Sin embargo, no se ha establecido una regla general que determine la edad o la talla óptimas para que se produzca el cambio de sexo. Aunque en algunas especies la talla en la que se produce el cambio es relativamente fija, existen especies con gran plasticidad individual. Munday *et al.* (2006) y Lucas (1965) afirman que la proporción de cambios

de sexo en *Chlamys varia* con respecto al tamaño de los individuos no es constante, pero Burnell (1983) opina que el cambio debe estar correlacionado con la edad más que con el tamaño ya que observó que el tamaño puede ser muy variable a una misma edad. Por el contrario, Charnov (1982) afirma la existencia de una talla óptima para el cambio de sexo en los animales. Un estudio reciente con animales que cambian de sexo (Allsop, 2003) ha descubierto que la talla relativa para el cambio de sexo es invariable. Una explicación para esta hipótesis se basa en el hecho de que en el 91-97% de los casos el cambio se produce al alcanzar el 72 % de la talla máxima corporal. Otras hipótesis señalan que el momento del cambio de sexo está determinado por la condición genética de los individuos e influenciado por los factores ambientales (Cole, 1941; Montalenti, 1958; Creese *et al.*, 1990). Además de los factores ambientales, en los moluscos marinos el cambio de sexo suele ser lábil, muy influenciado por las interacciones con coespecíficos (Hoagland, 1978; Warner *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 1998; Collin, 2005; Proestou, 2008). Según estos autores, el ambiente social del grupo (estructura de tallas, proporción de sexos, densidad) puede determinar, en parte, el momento del cambio de sexo en las especies hermafroditas protándricas. En consecuencia, las especies de gran talla, con larvas planctónicas, y las de comportamiento gregario deberían, en teoría, ser más dependientes de este factor. Sin embargo, Lucas (1965) señala que el cambio de sexo en *Chlamys varia* no debe estar muy influenciado por los factores externos.

En este estudio, hemos observado que el cambio de sexo de los individuos de *Chlamys varia* ocurre **únicamente** en una dirección: desde los individuos bisexuales (ambisexuales) que son machos funcionales, o sea, tienen una fase sexual masculina funcional y una fase sexual femenina latente a animales que son **hembras puras**. Cuando el molusco cambia de sexo pierde la capacidad de expresar la fase sexual masculina. No hemos observado cambio de sexo desde individuos que son hembra pura a individuos que sean bisexuales con fase sexual masculina funcional y fase sexual femenina latente.

En este estudio, se ha observado que los cambios de sexo en *Chlamys varia* comienzan a ocurrir a los **14 meses** de edad, cuando los individuos alcanzan una altura media de la concha de **21 mm**, y coincidiendo con que adquieren la capacidad de realizar la **vitelogénesis**. En consecuencia, se sugiere que el cambio de sexo en *Chlamys varia* comienza cuando los moluscos adquieren la capacidad de llevar a cabo la vitelogénesis, y que, precisamente, la capacidad de hacer vitelogénesis por el animal estabiliza el cambio de sexo unidireccional desde individuos bisexuales con funcionalidad macho a individuos que son hembras puras. Así mismo, opinamos que esta capacidad de hacer vitelogénesis fomenta la irreversibilidad del cambio de sexo una vez que ha ocurrido. Por tanto, parece ser que el cambio de sexo que hemos observado que hace *Chlamys varia* es dependiente de la capacidad vitelogénica del individuo bisexual que lo realiza.

Lucas (1965), según sus investigaciones, y recogiendo las de otros autores, propone que es posible que ocurran cinco tipos diferentes de cambio de sexo en *Chlamys varia*. Estos serían:

- El cambio de sexo de ♂ a ♀ en 2 temporadas reproductivas, que también fue observado por Lubet (1959) y por Reddiah (1962).
- El cambio de ♂ a ♀ en 1 misma temporada reproductiva (Lubet, 1959).
- El cambio de ♀ a ♂ en 1 misma temporada reproductiva (Reddiah, 1962).
- El cambio de ♀ a ♂ en 2 temporadas reproductivas, Lucas señala que observó este tipo de cambio de sexo en un solo caso.

- Sucesiones de cambios de sexo en un mismo individuo a lo largo de su vida (Lubet, 1959).

Además, señala que la frecuencia de dirección del cambio de sexo en *Chlamys varia* es variable dentro y entre las distintas poblaciones.

Los resultados que hemos obtenido en este estudio discrepan, en parte, de esta opinión que plantea Lucas (Lucas, 1965) y de los resultados propios de los autores que, a su vez, cita. Además, nuestros resultados profundizan el detalle celular del cambio de sexo en cuanto a la clase sexual que tiene el individuo que lo realiza. En relación con los resultados del conjunto de estos autores, los nuestros nos permiten afirmar lo siguiente: **a)** se confirma el cambio de sexo desde **macho a hembra**, pero detallamos -como ya hemos explicado más arriba- cómo ocurre este tipo de cambio de sexo; **b)** discrepamos en que haya cambio de sexo desde **hembra a macho**, nuestros resultados no lo apoyan.

Por lo tanto, en la población de *Chlamys varia* que hemos estudiado, a lo largo de la vida de un individuo es probable que no se sucedan varios cambios de sexo como proponen Lubet y Lucas para esta misma especie, sino que, si se produce, será un único cambio, y la dirección será desde bisexual, con funcionalidad macho, a hembra pura.

Según Leonard (2006), la cantidad de cambios sexuales durante el ciclo de vida de una especie es variable, pero señala también la existencia de un único cambio de sexo en muchos taxones. El cambio de sexo alternativo, que implica repetidos cambios sexuales a lo largo de la vida del organismo, se encontró en muchas especies de moluscos, siendo más frecuente, según Coe (1941), en organismos de vida larga. Baur (1998) propone que estas diferencias podrían estar relacionadas con las condiciones intrínsecas del propio individuo.

La duración del cambio de sexo no se encuentra bien definida en la bibliografía de los bivalvos. En algunos moluscos, como en el género *Crepidula*, puede ser muy rápido y durar menos de 3 semanas. Según Collin (2005), durante el cambio las fases de transición sexual son difíciles de observar, ya que su crecimiento es mucho más rápido. Chen & Soon (2002) observan, del mismo modo, un crecimiento más rápido del molusco durante el cambio de sexo, debido probablemente a que durante este periodo se invierte más energía en el crecimiento que en la reproducción. Por el contrario, Coe (1931) señala la existencia, en el cambio de sexo, de varias etapas intermedias entre una fase sexual y otra, en la especie *Ostrea lurida*, llegando en ciertas ocasiones a presentar una parte de la gónada un sexo, mientras que la otra presenta el otro sexo. Lucas (1965) también observa la sucesión de fases sexuales en *Chlamys varia*.

En este estudio, se ha observado que el proceso de cambio de sexo que realiza *Chlamys varia* es gradual y, por ello, se puede observar y estudiar claramente la evolución de las dos fases sexuales en la gónada.

Resumiendo estos argumentos, nuestros resultados indican que la población de *Chlamys varia* estudiada se estructura en individuos que tienen las siguientes clases sexuales:

1. Individuos ambisexuales que funcionan como machos. Estos animales tienen predominantemente una fase sexual funcional masculina y, además, tienen una fase sexual femenina latente.

2. Individuos unisexuales que son hembras puras. Estos moluscos no tienen fase sexual masculina, ni siquiera latente.
3. No hay individuos unisexuales que sean machos puros.
4. No hay individuos que sean hermafroditas funcionales (según la clasificación de tipos de sexualidad de Coe (Coe, 1943b).
5. Los individuos ambisexuales que funcionan como machos pueden cambiar de sexo, y cuando lo realizan pasan a ser hembras puras que, por su procedencia, se denominan hembras protándricas.
6. No se ha observado que las hembras puras realicen cambio de sexo.
7. En consecuencia, un animal cambia de sexo sólo una vez en su historia de vida.
8. El proceso de cambio de sexo se produce de forma gradual, puede ocurrir desde el primer periodo reproductivo y no es predecible. El cambio de sexo se consolida en la puesta, cuando el molusco descarga los gametos de la fase sexual masculina.
9. Cuando el animal cambia de sexo pierde la capacidad de expresar el sexo masculino y sólo expresa el femenino.
10. Para que ocurra el cambio de sexo parece que es condición necesaria que el animal adquiera la capacidad de realizar la vitelogénesis, condición que se cumple a partir de los **14 meses** de edad, cuando el molusco alcanza una altura media de la concha de **21 mm**. Además, parece que la vitelogénesis estabiliza el cambio de sexo.
11. Este perfil de condiciones o clases sexuales junto con el tipo de cambio de sexo que hemos observado en la población de *Chlamys varia* examinada, hace que opinemos que esta población manifiesta una **sexualidad consecutiva protándrica** (según la definición y clasificación de tipos de sexualidad elaborada por Coe (Coe, 1943b).

4.4.5 Tejido de reserva

Las células vesiculares (VC) son células ampliamente distribuidas en muchas especies de invertebrados (Álvarez, 2005), y en cuanto a la gónada de los moluscos bivalvos, Tompa (1984) señala la existencia de este tipo de células, y con función nutritiva, durante la gametogénesis. Estas células de reserva han sido denominadas también células de mucus (List, 1902), lagunas (Leenhardt, 1926), células de Langer (Lucas, 1965), células de Leydig o glucogénicas (Gimeno, 1991), lo cual ha dado lugar a una cierta confusión entre los distintos investigadores.

Hasta el momento se pensaba que los pectínidos se diferenciaban del resto de los bivalvos por la ausencia de tejido de reserva inter e intrafolicular en la gónada (Lubet, 1959; Allarakh, 1979; Strohmeier *et al.*, 2000), por lo que los metabolitos y la energía necesarios para la formación de la gónada los obtendrían a partir del alimento ingerido, o bien a partir de órganos especializados, atribuyendo un papel fisiológico limitado al conjunto gonadal de estas especies.

Sin embargo, esta opinión contrasta con los resultados obtenidos en este estudio, durante el cual se ha podido observar una línea celular somática, conjuntiva e interfolicular en el espacio gonadal, constituida por **células vesiculares** (VC) y que está asociada a las células germinales. La especie *Chlamys varia* en Galicia tiene la capacidad de producir considerable cantidad de células vesiculares entre los folículos gonadales, y estas VC están presentes, y son igual de abundantes, en las gónadas mixtas y en las que sólo son

femeninas; en esta especie, las VC son más frecuentes y abundantes en los individuos juveniles que en los adultos. Del mismo modo, Lucas (1965) observa células de Langer como constituyentes esenciales del conjuntivo de la gónada de *Chlamys varia*, y Álvarez (2005) señala que en *Venerupis pullastra* las VC pueden llegar a ocupar hasta el 60% del espacio gonadal.

En cuanto a la morfología de las VC, se puede señalar que la talla media de **10,67 μm** obtenida para *Chlamys varia* en Galicia es menor a los 16 μm citados para *Mytilus edulis* por Lenoir *et al.* (1989), pero más próxima a los 12-14 μm descritos para las células nutritivas de Loosanoff (1937) en la almeja *Venus mercenaria*. Además, por la semejanza en su morfología, posiblemente se trate de las células descritas por De la Roche (2008) como células globulares.

Gimeno (1991), estudiando las VC del manto de *Mytilus galloprovincialis*, y Berthelin *et al.* (2000) en las VC de *Crassostrea gigas*, describen estas células como poligonales y con núcleo excéntrico que, fijadas con fijadores que contengan ácido pícrico, como es el caso del fijador de Bouin, utilizado en este estudio, muestran estructuras acidófilas en forma de finas vesículas en el citoplasma y, además, estos autores indican que estas células contienen glucógeno. Galtsoff (1964) las describe en *Crassostrea virginica* como células grandes, redondas u ovaladas, con núcleo pequeño, sin nucleolo, con membranas bien desarrolladas, protoplasma provisto de finos gránulos y paredes rígidas que mantienen la forma celular tras el vaciado. Loosanoff (1962) presenta una serie de fotografías de estas células en *Ostrea edulis*.

Las VC presentes en la gónada de *Chlamys varia* analizadas en este estudio, presentan características morfológicas muy semejantes a las descritas en el conjuntivo de los mitílidos y ostréidos: son células que adquieren poca coloración en tinción tricrómica, verdosas, globosas, polimórficas, con inclusiones citoplasmáticas marrón brillantes, con núcleo rosa-azulado a menudo excéntrico, con una relación N/C de $0,31 \pm 0,02 \mu\text{m}$ y con presencia de nucleolo, por lo que con bastante probabilidad también tengan la capacidad de almacenar reservas de glucógeno. Sin embargo, sería necesario analizar estas células histoquímicamente para poder afirmar este hecho con seguridad.

Por otro lado, autores como Berthelin *et al.* (2000), en *Crassostrea gigas*, localizan las células de almacenamiento de glucógeno en diferentes regiones anatómicas del molusco: la gónada, los palpos labiales y el manto. Galtsoff (1964), en *Crassostrea virginica*, incluso relaciona la aparición de las VC con su localización en el conjuntivo, normalmente cerca de los conductos hemolinfáticos, no apareciendo en el borde del pie, los palpos, las branquias, ni tampoco en el borde del manto. Además, este mismo autor observa dentro de la estructura gonadal, una mayor abundancia de VC en las zonas más próximas a los gonoductos. Del mismo modo, en este estudio de la gónada de *Chlamys varia* se ha observado una abundancia de VC en el tejido conjuntivo del espacio gonadal, ubicadas principalmente en la región subepitelial del aparato digestivo, y pudiendo aparecer adosadas a los gonoductos y a la pared de los folículos gonadales.

En *Chlamys varia* observamos abundancia de VC en los animales juveniles cuando desarrollan su primera gónada, y se determinó que su abundancia en el conjuntivo era mayor en determinadas etapas que requieren elevado suministro energético, como por ejemplo durante la gametogénesis. De la Roche (2008) señala también un aumento en

cantidad de las células globulares durante los estadios 0, I, II y IIIC del desarrollo gametogénico de *Chlamys varia*, según sus resultados.

Este resultado es similar al obtenido por Herlin (1974), que observa que en el conjuntivo de los lamelibranquios, durante el reposo sexual, las VC se cargan de glucógeno y lo van descargando progresivamente, siendo absorbido por pinocitosis por las células germinales para su desarrollo. También se ha demostrado, en la ostra, que el desarrollo de los ovocitos se lleva a cabo gracias a las reservas que contienen las VC (Matsumoto *et al.*, 2003; Berthelin *et al.*, 2000). De acuerdo con este patrón, en los ostréidos el contenido en glucógeno sufre un ciclo estacional que se relaciona con el desarrollo de la gónada, disminuyendo la cantidad de glucógeno almacenado cuando el volumen de la gónada aumenta y viceversa (Pekelharing, 1901; Bargeton, 1942; Galtsoff, 1964). Gosling (2007) añade que este almacenamiento y liberación del glucógeno está regulado bajo control hormonal. Además, Loosanoff (1962) y Álvarez (2005) describen, tras la puesta de *Ostrea edulis* y *Venerupis pullastra*, respectivamente, una importante síntesis y acumulación de glucógeno, desarrollándose, simultáneamente, grandes masas de tejido conjuntivo que contienen VC.

Debido a la abundancia de las VC en el conjuntivo del espacio gonadal de *Chlamys varia* en determinadas etapas, y por los colores con los que se tiñen estas células en tinción tricrómica, probablemente se trate de células de reserva energética almacenadoras de glucógeno, que aportan energía durante el desarrollo gametogénico. Esta función nutritiva de las VC también fue descrita por Herlin (1974) en el conjuntivo de los lamelibranquios. Blundstone (1885), de igual forma, describe a las VC como almacenadoras de glóbulos de grasa, variables en número y talla y formando vacuolas. Este autor argumentaba que en alcohol, tanto las vesículas como las vacuolas, vacían su contenido, por lo que con el procesado histológico se suele disolver tanto el glucógeno como los glóbulos de grasa. En este estudio se han observado algunas inclusiones teñidas de marrón brillante (gránulos de glucógeno) y diferentes vacuolas transparentes en el citoplasma de las VC, en algunos casos bastante degradadas por el procesado histológico. La aparición de vacuolas rodeando al núcleo de las VC en *Chlamys varia* ocurrió únicamente en aquellas células que se encontraban en proceso de degradación, por lo que probablemente se trate de vacuolas autofágicas como así las describen Bayne *et al.* (1982) y Pipe (1987).

4.5 Conclusiones

Metodología

- El proceso metodológico empleado en cada muestreo fue el siguiente: tras finalizar la disección y con el fin de estudiar histológicamente las gónadas, éstas se sumergieron en líquido fijador de Bouin y posteriormente se inició el proceso de aclarado y deshidratación. Para ello, las gónadas se pasaron por una serie gradual de alcoholes de menor a mayor capacidad deshidratante, almacenando la muestra en el primero de ellos: alcohol etílico al 70% saturado con carbonato de litio, para evitar el exceso de tinción y conservar las muestras. A pesar de que los resultados de los cortes histológicos han sido positivos en la mayoría los casos analizados en este trabajo, para posteriores experiencias semejantes se recomienda una ligera modificación en el segundo paso del proceso de aclarado. Este consistiría en la conservación de las muestras gonadales en el segundo de los alcoholes: alcohol etílico al 70 % **sin** carbonato de litio, para evitar de este modo un aclarado excesivo en los cortes histológicos, especialmente en las gónadas que presenten un menor tamaño.

Origen de la gónada y de las células germinales

- La gónada de *Chlamys varia*, con sus células germinales, ya está presente en animales de **8,5 meses** de edad y una altura media de la concha de **13,7 mm**, o incluso antes, y posteriormente se desarrolla durante el crecimiento del animal.
- La gónada es un órgano con entidad anatómica y funcional propias. Consiste en un sistema gonoducto-folicular en cuyo interior se forman, desarrollan y maduran las series gametogénicas masculina y femenina. Tanto en animales jóvenes, que hacen su primera gónada, como en moluscos adultos, las células germinales que originan las series gametogénicas masculina y femenina son, respectivamente, la **espermatoгония primaria** y la **ovogonia**; no se han observado **células germinales primordiales** anteriores a ellas y de las que tales células deriven. Si las células germinales primordiales existen, deben de ocurrir durante la embriogénesis del molusco, pero no se observan en el juvenil ni en el adulto. No hay espermatoгонias ni ovogonias fuera del sistema gonoducto-folicular, o sea, en el tejido conjuntivo que rodea a este sistema.
- A nivel celular, y ya desde que el animal es juvenil, los orígenes de la serie gametogénica masculina y de la serie gametogénica femenina son independientes; por tanto, ambas series gametogénicas son líneas celulares autónomas e independientes entre sí. La célula inicial de la serie gametogénica masculina es la espermatoгония primaria, y la célula inicial de la serie gametogénica femenina es la ovogonia, y ambas deben quedar determinadas durante la embriogénesis del animal porque en el molusco juvenil ya están instaladas.
- Se definen las series gametogénicas masculina y femenina, proponiendo para cada una de ellas una secuencia de estirpes celulares y los procesos celulares que intervienen para producir los gametos.

- Se formula una hipótesis sobre el origen de la gónada de *Chlamys varia*. Durante la embriogénesis se debe formar el esbozo de la gónada, que contiene una masa celular conjuntiva, constituida por fibroblastos, en cuyo seno están las espermatogonias primarias y las ovogonias.
- Se demuestra la existencia de cuerpos de Balbiani en los ovocitos, y esto sugiere que las líneas germinales masculina y femenina se determinan por preformación durante la embriogénesis.

Desarrollo y estructura de la gónada

- La formación de la gónada comienza en la base del pie, próxima al riñón y a la cara anterior del músculo aductor, continuando después su desarrollo rodeando al intestino.
- El desarrollo de la gónada sigue un orden secuencial, formándose en primer lugar el epitelio externo de revestimiento y a continuación desarrollándose en su interior el tejido conjuntivo, en el que surgirán progresivamente las estructuras de la gónada: gonoductos, folículos, masa celular conjuntiva, espermatogonias y ovogonias. Simultáneamente se forman las fibras de colágeno del conjuntivo, el músculo liso interfolicular, el músculo liso subepitelial y los canales hemolinfáticos.
- Durante el desarrollo gonadal, el epitelio externo de revestimiento forma en su tercio distal un epitelio especializado con células secretoras de pigmento marrón, que aumenta su grosor y longitud en función de la edad y talla de las zamburriñas.
- El tejido conjuntivo gonadal se desarrolla rodeando el intestino. Se ha observado que además de ser un tejido que contribuye al mantenimiento de la estructura gonadal, también actúa como lugar de acumulación de reservas energéticas en el interior de las células vesiculares.
- El desarrollo de los gonoductos, de los folículos gonadales y de las series gametogénicas en la gónada de *C. varia* se produce de manera simultánea. Su desarrollo comienza en el interior del tejido conjuntivo localizado en la base del pie y se extiende alrededor del intestino y entre las asas intestinales. El sistema gonoductal se evagina, formando divertículos, con la aparición de las series gametogénicas, dando lugar a los folículos gonadales.
- Las primeras células de las líneas germinales comienzan a asentarse adosadas a la parte interna de la pared de los gonoductos y de los divertículos gonadales. No aparecen células de las líneas germinales fuera del sistema gonoducto-folicular en la gónada.
- El tamaño de los gonoductos y las ramificaciones de los folículos gonadales aumenta en función de la edad y de la talla. Además, el grado de desarrollo de ambas estructuras depende de su localización dentro de la estructura gonadal.

- La gónada de las hembras de *C. varia* presenta folículos gonadales femeninos, en ellos no hay fase sexual masculina. La gónada de los machos tiene folículos gonadales mixtos porque en ellos se desarrolla una fase sexual masculina y otra femenina (es una gónada intersexual); la fase sexual masculina es la funcional y la femenina permanece latente y tiene escaso desarrollo. No aparecen en ningún caso folículos gonadales puramente masculinos.
- Tras la formación gonoducto-folicular de la gónada, se observa en el interior del tejido conjuntivo el desarrollo de los canales hemolinfáticos, los haces musculares y las fibras de colágeno. En estadios de puesta incrementa el número y tamaño de los haces musculares gonadales situados alrededor de los folículos y los gonoductos, posiblemente debido a su participación activa en la evacuación de los gametos.

Gametogénesis

- El desarrollo de las líneas germinales masculina y femenina durante la gametogénesis ocurre de forma centrípeta al folículo y es una gametogénesis asincrónica, aunque presenta cierto sincronismo por pequeños grupos celulares.
- En el juvenil, el desarrollo de las series gametogénicas masculina y femenina es rápido y comienza temprano, simultáneamente a la formación de los gonoductos y de los folículos.
- Las espermatogonias y las ovogonias se diferencian claramente entre sí por sus características citológicas.

Espermatogénesis

- En la espermatogénesis, las espermatogonias primarias (Spg1) se dividen inicialmente de manera mitótica e individual. Cuando una Spg1 se compromete a realizar la meiosis, previamente realiza un proceso mitótico de proliferación celular con reducción de tamaño (PRT), originando espermatogonias secundarias (Spg2) que se organizan en un clon (Spg2/c). El proceso de PRT (6-9 mitosis) y la formación del clon de espermatogonias secundarias es imprescindible que tenga lugar de forma previa al inicio del proceso meiótico.

Ovogénesis

- En la ovogénesis, las ovogonias realizan dos procesos secuenciales de multiplicación proliferativa: una proliferación independiente, donde las células hijas no reducen su tamaño ni se adosan entre sí, y una proliferación clonal (PC), que consiste en una serie de divisiones mitóticas (4-5 mitosis) donde las células hijas no reducen su tamaño pero quedan adosadas entre sí formando clones de ovogonias. Tanto el proceso de PC como la formación de los clones de ovogonias son imprescindibles que tengan lugar previamente al inicio del proceso meiótico.

- Existen dos formas de realizar la PC: en **grupo** o en **línea**, que se distinguen por la forma de orientación de las metafases en el proceso de la mitosis y por el modo como tales grupos se adosan a la pared del folículo.
- Los ovocitos realizan la segunda frenada meiótica en el estadio de "germinal vesicle breakdown, GVBD", antes de alcanzar la metafase I, y su diámetro medio es de $46,3 \pm 2,5 \mu\text{m}$. En la puesta, los ovocitos se emiten frenados en GVBD.
- La formación de la envoltura vitelina (EV) comienza en los ovocitos vitelogénicos jóvenes, que se sitúan adosados a la pared folicular según su eje mayor, y conlleva la desaparición de las células auxiliares que estaban adosadas a los ovocitos. El espesor medio de la EV en los ovocitos postvitelogénicos es de $3 \mu\text{m}$. El crecimiento de la EV está correlacionado con el desarrollo del vitelo y los ovocitos de esta especie son emitidos en la puesta con EV.
- Durante el proceso de maduración ovocitaria, *C. varia* presenta cuerpos de Balbiani en los ovocitos, que se manifiestan con claridad en los ovocitos previtelogénicos y se dispersan por el citoplasma en los ovocitos postvitelogénicos. Estos cuerpos son marcadores y determinantes de la línea germinal, están constituidos por agregados de organelas y forman barras irregulares o tienen forma de media luna. Los cuerpos de Balbiani de la zamburiña son normalmente 2 barras, aunque también puede verse sólo 1, y se localizan en la zona perinuclear del citoplasma, adheridos a la membrana nuclear.
- Durante la vitelogénesis de la zamburiña aparece únicamente un tipo de gránulo de vitelo en diferentes estados de desarrollo y pequeños gránulos corticales en la parte más periférica de los ovocitos postvitelogénicos.
- En *Chlamys varia*, además de presentar focos de atresia en los ovocitos postvitelogénicos de los folículos que no evacuaron, la atresia también afecta a los ovocitos previtelogénicos que no llegan a iniciar la vitelogénesis. El proceso de atresia puede afectar únicamente a un folículo, a un grupo de folículos o, en general, a toda la gónada, y también puede observarse en el interior de los gonoductos.

Estadios del ciclo reproductor

- Para animales juveniles que hacen su primera gónada, se define por primera vez el estadio de gonadogénesis o foliculogénesis primaria, que denominamos gonadogénesis inicial (GI), tanto para animales con folículos mixtos (masculinos y femeninos) como para animales que son hembras puras. Este estadio se caracteriza por el comienzo de la producción del tejido conjuntivo de la gónada, la gonoductogénesis y la foliculogénesis inicial de la gónada primaria. Simultáneamente, las series gametogénicas masculina y femenina inician su desarrollo.
- La gran mayoría de las zamburiñas pasan desde el estadio B a los estadios I y II, ya que se produce una generación continua de cohortes de células germinales sin llegar a vaciarse totalmente la gónada. No se observan estadios C o de restauración, ni tampoco el estadio 0 o de reposo reproductivo. Los estadios D o de agotamiento son muy escasos y únicamente se observan en la fase sexual masculina.

Temporalidad del ciclo reproductor

- El desarrollo gonadal de *C. varia* cultivada en suspensión muestra un patrón estacional. El ciclo reproductor es estacional y anual.
- El primer periodo reproductivo se presenta a los **8,5-14 meses** de edad, y tiene una etapa de gonadogénesis inicial durante las estaciones de otoño-invierno, en la que se manifiestan claramente la espermatogénesis, la maduración y la puesta de la fase sexual masculina en los animales bisexuales, mientras que la ovogénesis en las hembras puras es más lenta.
- Los estadios I y II, que dan comienzo al desarrollo gametogénico, se llevan a cabo durante la estación invernal y finalizan a principios de primavera.
- Desde el mes de abril hasta finales de junio predomina el estadio IIIA o de maduración, coincidiendo con la máxima producción de gónada.
- El periodo de puestas es extendido, las puestas ocurren a principios de primavera, verano y otoño.
- La zamburiña realiza sucesivas puestas parciales durante su ciclo reproductor y no suele alcanzar el agotamiento total tras la puesta (estadio D), ni pasar por el estadio 0 ó de reposo reproductivo.
- La población de *C. varia* cultivada en las rías de Galicia presenta una asincronía interindividual en el desarrollo gametogénico, que conlleva que se pueda reproducir durante un largo periodo del año.
- También existe una asincronía en el desarrollo gametogénico en diferentes zonas de la gónada de un individuo, siendo frecuente el solapamiento de varios estadios del ciclo reproductor en una misma gónada.
- En la historia de vida de un individuo y de la población, la maduración de las dos fases sexuales presenta una separación en el tiempo. En los animales bisexuales con gónada mixta, la fase sexual masculina (FS♂) es la primera en alcanzar la madurez sexual, a los **8-9 meses** de edad, con un tamaño gonadal muy reducido y una altura media de **15 mm** de la concha. Esta es una maduración fugaz que desencadena rápidamente la puesta. Sin embargo, la maduración de la primera fase sexual femenina (FS♀) comienza a los **14 meses** de edad, surgiendo así las primeras hembras dioicas vitelogénicas puras. Y a los **16,5 meses** de edad, con una altura media de **25 mm** de la concha, se observó la primera puesta de hembra pura y, por lo tanto, el logro de la madurez de la FS♀.

Clases sexuales, cambio de sexo y tipo de sexualidad

Clases sexuales

- Nuestros resultados indican que la población de *Chlamys varia* estudiada se estructura en individuos que tienen las siguientes clases sexuales:

1. Individuos ambisexuales que funcionan como machos. Estos animales tienen predominantemente una fase sexual funcional masculina y, además, tienen una fase sexual femenina latente.
2. Individuos unisexuales que son hembras puras. Estos moluscos no tienen fase sexual masculina, ni siquiera latente.
3. No hay individuos unisexuales que sean machos puros.
4. No hay individuos que sean hermafroditas funcionales (según la clasificación de tipos de sexualidad de Coe (1943)).

Cambio de sexo

- Los individuos ambisexuales que funcionan como machos pueden cambiar de sexo, y cuando lo realizan pasan a ser hembras puras que, por su procedencia, se denominan hembras protándricas.
- No se ha observado que las hembras puras realicen cambio de sexo.
- En consecuencia, un animal cambia de sexo sólo una vez en su historia de vida.
- El proceso de cambio de sexo se produce de forma gradual, puede ocurrir desde el primer periodo reproductivo y no es predecible. El cambio de sexo se consolida en la puesta, cuando el molusco descarga los gametos de la fase sexual masculina.
- Cuando el animal cambia de sexo pierde la capacidad de expresar el sexo masculino y sólo expresa el femenino.
- Para que ocurra el cambio de sexo parece que es condición necesaria que el animal adquiera la capacidad de realizar la vitelogénesis, condición que se cumple a partir de los **14 meses** de edad, cuando el molusco alcanza una altura media de la concha de **21 mm**. Además, parece que la vitelogénesis estabiliza el cambio de sexo.

Tipo de sexualidad

- El perfil de condiciones o clases sexuales junto con el tipo de cambio de sexo que hemos observado en la población de *Chlamys varia* examinada, hace que opinemos que esta población manifiesta una **sexualidad consecutiva protándrica** (según la definición y clasificación de tipos de sexualidad elaborada por Coe, 1943b).

Tejido de reserva

- Los individuos juveniles de *C. varia* tienen la capacidad de producir células vesiculares (VC) en el tejido conjuntivo interfolicular de la gónada. Además, estas células están presentes y son igual de abundantes tanto en las gónadas mixtas como en las que son exclusivamente femeninas.
- Las VC aparecen desde el inicio del desarrollo gonadal en las zamburiñas juveniles y se ubican principalmente en la región subepitelial del aparato digestivo,

donde pueden aparecer adosadas a los gonoductos y a la pared de los folículos gonadales;

- Por su abundancia en el conjuntivo en determinados etapas que requieren elevado suministro energético, estas VC son probablemente células de reserva energética almacenadoras de glucógeno, y su función podría ser nutritiva, aportando energía durante el desarrollo gametogénico.



5 –Efecto de la profundidad sobre el ciclo reproductor y de reservas de los pectínidos *Aequipecten opercularis* y *Chlamys varia* en las rías gallegas

EFFECTO DE LA PROFUNDIDAD SOBRE EL CICLO REPRODUCTOR Y DE RESERVAS DE LOS PECTÍNIDOS *Aequipecten opercularis* Y *Chlamys varia* EN LAS RÍAS GALLEGAS

5.1 Introducción

Este capítulo estudia la etapa de engorde en suspensión de la volandeira (*Aequipecten opercularis*) y la zamburiña (*Chlamys varia*). Se ha demostrado que los pectínidos cultivados en suspensión presentan mayor supervivencia y crecimiento de la concha y en carne que las cultivadas en fondo (Mendoza *et al.*, 2003). De acuerdo con esta afirmación, los valores registrados por el índice de condición de la gónada de ejemplares cultivados en suspensión por Román *et al.* (1996) y Acosta *et al.* (1997) son más elevados que los correspondientes a animales de poblaciones naturales, situadas a mayor profundidad (Román *et al.* 2001c). Este mayor desarrollo se debe a que el sistema de cultivo en suspensión proporciona mejores condiciones respecto a las poblaciones naturales (Pazos *et al.*, 1997; Uddin *et al.*, 2007), ya que permite un mayor flujo de agua a través de los animales (Freites & Velasco, 2008), así como una menor exposición a los predadores, lo que conlleva que no necesiten invertir parte de su energía en el engrosamiento de la concha como medida de protección y disponer de ella para fines metabólicos o gametogénicos (Hardy, 1991).

El objetivo de esta experiencia es conocer la influencia de las condiciones ambientales asociadas a las diferentes profundidades en las que se realizó el cultivo experimental de las especies de pectínidos de interés comercial (volandeira y zamburiña) en Galicia, sobre el crecimiento de la concha, el desarrollo gonadal y de los tejidos somáticos de estos moluscos.

La profundidad de cultivo es un factor clave para el éxito de la acuicultura de pectínidos en suspensión, ya que se encuentra estrechamente relacionada con muchas variables ambientales como la temperatura, la disponibilidad de alimento o la turbidez, que muestran un claro gradiente vertical (Lodeiros & Himmelman, 2000; Fréchette & Daigle, 2002), existiendo al mismo tiempo una clara interrelación entre ellas, por lo que es sumamente complicado analizar el efecto que produce una variable de manera independiente (Smith *et al.*, 2007).

La profundidad en la que se sitúe el cultivo debe permitir que los animales dispongan de alimento abundante, pero a la vez no localizarse muy próxima a la superficie para prevenir las perturbaciones por el oleaje, que mueve el sistema de cultivo provocando que unos pectínidos se introduzcan dentro de otros cortando el músculo aductor y produciendo la muerte (Taguchi, 1979); evitar las bajas salinidades durante el invierno o las altas temperaturas durante el verano (Laing, 2002); la abundancia de organismos que colonizan la concha de los pectínidos y sistemas de cultivo, reduciendo su crecimiento al restringir el oxígeno y disminuir la cantidad de materia orgánica particulada disponible (Avendaño & Cantillánez, 1989); o los efectos del paso de las embarcaciones (Bourne *et al.*, 1989). Tampoco debe tocar el fondo en marea baja para evitar el acceso de predadores al sistema de cultivo (Bourne *et al.*, 1989).

Tal y como se señala en el Capítulo 3, la reproducción en los pectínidos que habitan las rías gallegas es un proceso fisiológico cíclico que depende de la interacción de nu-

merosos factores exógenos y endógenos. De acuerdo con la descripción de Sastry (1979), el ciclo reproductor es una respuesta, genéticamente controlada, a las condiciones ambientales.

El efecto de la profundidad sobre la actividad reproductiva ha sido documentada en los bivalvos marinos, señalando que las diferencias en la producción de gónadas están asociadas principalmente a las diferencias en los recursos alimenticios a través de la columna de agua (Román *et al.*, 2001b; Rupp *et al.*, 2004), a las variaciones de temperatura (Burnell, 1991; Rupp *et al.*, 2004), la latitud (Lubet, 1959), al fotoperiodo (De la Roche, 2008) y a la salinidad (Skreslet, 1973; Navarro & González, 1998). En Galicia se han registrado variaciones importantes en el ciclo reproductor de *A. opercularis* en función de la profundidad, relacionadas con el efecto de las condiciones ambientales (Román *et al.*, 2002). Por lo tanto, como señalan Barber *et al.* (1988), no es la profundidad por sí misma, sino las condiciones ambientales que varían con la profundidad, las que influyen sobre el ciclo reproductor de los pectínidos.

Se ha demostrado que la gametogénesis en los pectínidos varía entre lugares con diferente profundidad. Esta variación en la actividad reproductiva dependiente de la profundidad puede afectar a la evolución del índice de condición gonadal, al momento en el que se realiza la puesta y al número de puestas, a la tasa de desarrollo gametogénico o al volumen de gametos producidos (Tunbridge, 1968; MacDonald & Thompson, 1986; Barber *et al.*, 1988).

Varios estudios han señalado que diferentes pectínidos muestran menores valores en el índice de condición gonadal a medida que aumenta la profundidad, como en el caso de *Placopecten magellanicus* (Barber *et al.*, 1988). Estos autores también demuestran que la fecundidad estimada de esta especie es mayor en aguas menos profundas. Resultados muy similares se han obtenido en la especie *Patinopecten yessoensis*, mostrando mejores condiciones reproductivas si es cultivada en suspensión a 15 m que sobre el fondo (30 m) (Uddin *et al.*, 2007). Del mismo modo, *Chlamys islandica* muestra valores significativamente mayores en el índice gonadal en los lugares más someros (20 m) que en aguas más profundas (50 m) (Skreslet & Brun, 1969). Y *Nodipecten nodosus* cultivada en suspensión a 8, 21 y 34 m de profundidad, deja de mostrar desarrollo gonádico en la última de las profundidades (Lodeiros *et al.*, 1998).

Por el contrario, Campos *et al.* (2001) observan que las condiciones ambientales asociadas al cultivo en aguas poco profundas de *A. opercularis* elevan el requerimiento energético del pectínido para el mantenimiento del metabolismo, que no llega a ser suficiente para el desarrollo de la gametogénesis. Por este motivo desaconsejan el cultivo de volandeira en aguas poco profundas que pueden ser afectadas por altas temperaturas y menor cantidad de alimento disponible. En el caso concreto de *C. varia* cultivada en las rías gallegas, Parada *et al.* (1993) no observan diferencias significativas en los valores del índice de condición gonadal entre profundidades de cultivo de 1, 5 y 7 m.

La profundidad también puede afectar al momento en el que se realiza la puesta, así pues, en la especie *Pecten novaezelandiae* la puesta se realiza antes cuando los individuos son cultivados entre los 28 y los 40 m que a menores profundidades (Tunbridge, 1968). Sin embargo, la especie *Chlamys islandica* cultivada a 39 m muestra puestas más tardías que situada a menor profundidad (Skreslet, 1973).

En el caso de *P. magellanicus*, aunque no se observa variación en el momento de la puesta entre lugares con diferente profundidad, el desarrollo gametogénico presenta tasas más reducidas en los individuos situados a una profundidad de 31 m que en los que se localizan a 10 m (MacDonald & Thompson, 1986). Barber *et al.* (1988) señalan incluso una mayor producción, más rápido desarrollo gametogénico, maduración y mayores fecundidades cuanto menor es la profundidad a la que se localicen. De manera similar, Schmitzer *et al.* (1991) observan que *P. magellanicus* produce mayores volúmenes de gametos en aguas menos profundas (38-56 m) en comparación con individuos localizados a profundidades mayores (56-66 m). Resultados semejantes se obtuvieron al relacionar el desarrollo gametogénico respecto a la profundidad en *P. novaezelandiae* (Williams & Babcock, 2004).

Estas variaciones en la actividad reproductiva de los pectínidos cultivados a diferentes profundidades, llevaron a muchos autores a señalar la temperatura como factor determinante del ciclo reproductor de estos bivalvos. Se ha demostrado que el desarrollo gonadal y el ciclo gametogénico en *Aequipecten tehuelchus*, *Argopecten ventricosus*, *Nodipecten nodosus*, *Argopecten purpuratus*, *Pecten maximus*, *Aequipecten opercularis*, *Chlamys bifrons* o *Chlamys asperrima* está regulado por la temperatura (Broom, 1976; Illanes *et al.*, 1985; Orensanz, 1986; Paulet, 1990; Paulet & Boucher, 1991; Manzoni *et al.*, 1996; Villalejo-Fuerte & Ceballos-Vázquez, 1996; Cano *et al.*, 2000; Román *et al.*, 2001b; Styan & Butler, 2003). Sin embargo, el ciclo reproductor no muestra una clara relación con los valores de temperatura en estudios realizados con *Aequipecten opercularis* (Román *et al.*, 2001c), *Pecten jacobaeus* (Mestre, 1992) o *Argopecten ventricosus* (Villalaz, 1994).

Otros autores opinan que la reproducción está limitada en última instancia por el disponibilidad de alimento en especies como *Zygochlamys patagonica*, *Argopecten purpuratus*, *Pecten maximus*, *Chlamys varia*, *Pecten jacobaeus*, *Aequipecten tehuelchus* o *Placopecten magellanicus* (Brown & Guerra, 1980; MacDonald & Thompson, 1986; Orensanz, 1986; Román, 1991; Mestre, 1992; Jaramillo *et al.*, 1993; Román & Campos, 1993). Mientras que, en el caso de *Aequipecten opercularis*, el ciclo reproductor no muestra una clara relación con la disponibilidad de alimento (Román *et al.*, 2001c).

Además, se ha descrito el efecto combinado de estas dos variables ambientales, la temperatura y la disponibilidad de alimento, como principal responsable de la regulación del ciclo reproductor en *Pecten maximus*, *Euvola ziczac*, *Nodipecten nodosus* y *Argopecten ventricosus* (Brea, 1986; Ferraz-Reyes, 1987; Román & Acosta, 1990; Luna-González, 1997).

Navarro & González (1998) señalan que, en general, los bivalvos cultivables se suelen adaptar a los cambios de salinidad si no llegan a alcanzar los límites letales de cada especie. Sin embargo, cambios salinos muy bruscos pueden afectar al ciclo reproductor de estos moluscos. Aunque son escasos los casos documentados de la regulación del ciclo reproductor de los pectínidos por la salinidad, se ha observado que los cambios de esta variable producen la activación de la puesta en *C. islandica* (Skreslet, 1973). Sin embargo, en otras especies como *A. ventricosus*, la salinidad parece no afectar al ciclo reproductor (Luna-González, 1997).

Además, la gametogénesis es un proceso que requiere energía y esta energía puede provenir directamente del alimento ingerido, de las reservas almacenadas en diferentes teji-

dos del animal o bien de la combinación de ambas (Sastry, 1979; Barber & Blake, 1985; Pazos *et al.*, 1997). Estas fuentes de energía, junto con la eficiencia en la movilización de la misma, son los principales factores que van a determinar el éxito reproductivo de una especie.

Bajo condiciones ambientales óptimas, los moluscos bivalvos tienen suficiente energía para cubrir las necesidades metabólicas y reproductivas; mientras que, en condiciones menos favorables, se requiere mayor cantidad de energía para el crecimiento, dejando una porción muy reducida de energía disponible para la reproducción (Calow, 1981; Bayne *et al.*, 1983).

Los moluscos bivalvos presentan un ciclo estacional de almacenamiento y movilización de reservas energéticas, que se correlaciona con el ciclo reproductivo anual y con la disponibilidad de alimento en diferentes especies comerciales de pectínidos, mitílidos y ostréidos (Lubet, 1959; Gabbot, 1975; Bayne *et al.*, 1982; Barber & Blake, 1991). Los diferentes patrones de almacenamiento y utilización de reservas energéticas en los pectínidos se deben principalmente a los factores ambientales (Pazos, 1993). Las condiciones ambientales más importantes en la regulación del ciclo de reservas son la temperatura y la disponibilidad de nutrientes (Bayne & Newell, 1983), factores directamente relacionados entre sí, ya que el afloramiento de agua fría rica en nutrientes hacia la costa en primavera y verano unido a los altos niveles de luz característicos de esta época, dan lugar a grandes proliferaciones fitoplanctónicas, y por lo tanto abundante disponibilidad de alimento (Darriba *et al.*, 2005).

La relación entre el ciclo de almacenamiento de energía y el ciclo reproductor varía dependiendo de la estrategia o modo reproductivo de la especie. La estrategia reproductiva puede ser oportunista si ambos ciclos se realizan simultáneamente, conservadora si el ciclo de almacenamiento de nutrientes está claramente separado del ciclo reproductor, o bien puede tratarse de una estrategia reproductiva mixta (Bayne, 1976).

Según la bibliografía, la estrategia reproductiva de la zamburiña es oportunista, ya que realiza la gametogénesis con independencia de las reservas energéticas, pero dependiente del alimento disponible. Esta especie es capaz de movilizar rápidamente el alimento ingerido cuando las temperaturas y el fitoplancton son altos y abundantes y transformarlo en energía, que destina al desarrollo gonadal (Burnell, 1983). En primavera, cuando el alimento es abundante se produce el crecimiento gonadal, que conlleva el aumento del peso del molusco, de manera similar a lo que ocurre en *Chlamys septemradiata* (Ansell, 1974). Sin embargo, para la segunda puesta emplea la energía almacenada al mismo tiempo que aumenta el peso gonadal (Burnell, 1983, 1991). Por este motivo, Burnell & Rodhouse (1980) proponen que en condiciones de escasez de alimento disponible, esta especie puede emplear las reservas metabólicas durante un período de desove prolongado.

Por el contrario, la volandeira se considera una especie conservadora que inicia la gametogénesis en invierno a expensas de las reservas acumuladas en los tejidos somáticos el verano anterior (Ansell, 1974; Comely, 1974; Taylor & Venn, 1979).

La estrategia reproductiva de la volandeira implica además un largo periodo de cría con varias puestas parciales, seguidas de una rápida maduración de gametos de menos de un mes de duración (Román *et al.*, 2001c, 2002). Durante la puesta principal, que afecta a

toda la población, esta especie emplea la energía almacenada en los tejidos de reserva. Sin embargo, las puestas parciales, que solamente afectan a parte de la población, se realizan usando la energía externa (Román *et al.*, 2002). La volandeira no es tan eficiente ni rápida como la zamburiña movilizandando la energía (Burnell, 1983). La transferencia de energía hacia la gónada es más rápida durante la primavera y el verano pero más lenta en el otoño (Román & Acosta, 1995).

Sin embargo, estas especies coinciden al mostrar una transición gradual entre el prioritario crecimiento somático de los juveniles hasta la importante producción de tejido reproductor de los ejemplares adultos (Thompson & MacDonald, 1991). Los juveniles son más eficaces en la adquisición de energía y en la conversión de alimento en tejidos corporales, requieren mayor cantidad de alimento por unidad de peso que destinan principalmente al crecimiento, pierden peso más rápidamente con el ayuno y están más sometidos a la depredación. Con la edad se van haciendo menos productivos por unidad de peso, y se incrementa la cantidad de energía asimilada, el metabolismo y la producción de gametos (Freites & Velasco, 2008).

En los pectínidos estudiados, los valores del índice de condición gonadal y de los índices de condición de los órganos de reserva, así como su evolución, varían dependiendo de la profundidad de cultivo, de las variables ambientales como la temperatura, la disponibilidad de alimento o la salinidad, y también de los requerimientos metabólicos y gametogénicos de cada individuo (Acosta *et al.*, 1997). El conocimiento de la profundidad de cultivo óptima para la reproducción de las especies de pectínidos gallegos con interés comercial, así como del efecto de las principales condiciones ambientales asociadas a cada profundidad, es esencial para poder iniciar el cultivo de pectínidos en suspensión en nuestras rías.

5.2 Material y métodos

5.2.1 Sistema de engorde

El sistema de engorde empleado fue el cultivo suspendido en batea (Fig. 5.1.), descrito en el apartado de “Material y métodos” del Capítulo 3. Las columnas de cestas fueron colocadas en cada cuerda a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad. No se probaron profundidades mayores debido a que al aumentar la profundidad los cabos se enredan dificultando las operaciones de cultivo. La densidad de cultivo fue de 60 ejemplares por cesta. Cada 2 meses en primavera y verano, y cada 3 meses en otoño e invierno las cestas fueron retiradas y reemplazadas por cestas limpias.

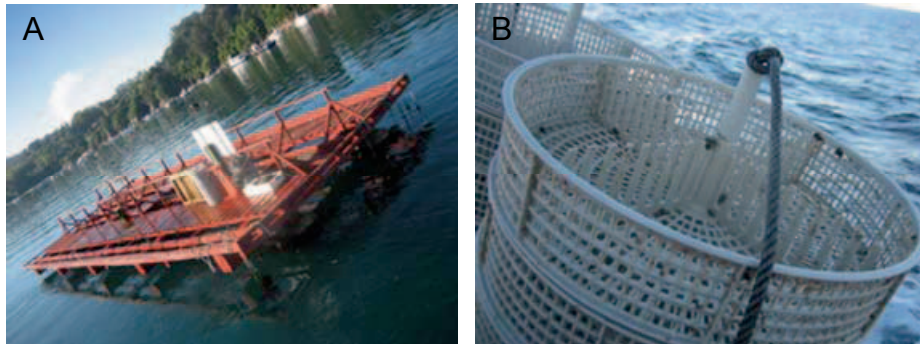


Fig. 5.1. Sistema de engorde. A) Batea experimental del IEO en Lorbé, B) Cesta de engorde.

5.2.2 Material biológico

El estudio del efecto de la profundidad de cultivo sobre el ciclo reproductor y de reservas de *Aequipecten opercularis* y *Chlamys varia* en Galicia, se realizó con ejemplares cuyo origen es el siguiente:

- a) Una población de *Aequipecten opercularis* obtenida mediante colectores en Aldán, Ría de Pontevedra, durante el año 2007.
- b) Una población de *Chlamys varia* obtenida mediante colectores durante el año 2007 en Lorbé, Ría de Ares-Betanzos, A Coruña.

Posteriormente, los pectínidos fueron cultivados en cestas suspendidas en bateas en las mismas rías en las que fue captada la semilla.

Experiencias realizadas:

a) La población de volandeira fue obtenida a partir de semilla asentada en colectores fondeados en mayo-junio de 2007 en Aldán, despegada en septiembre y mantenida en cultivo suspendido hasta el comienzo de la experiencia. El 16 de octubre de 2007, cuando la semilla alcanzó la talla de $29,2 \pm 1,9$ mm de altura, fue cultivada en cestas suspendidas a las tres profundidades anteriormente mencionadas en Aldán (Fig. 5.2.A y 5.3.). Los 21 muestreos se llevaron a cabo con una periodicidad de 15 días desde esa fecha hasta el 19 noviembre de 2008.

b) La población de zamburiña provino de semilla fijada en colectores fondeados durante primavera-verano de 2007 en la Ría de Ares-Betanzos, despegada en otoño-invierno del mismo año y mantenida en cultivo suspendido hasta el comienzo de la experiencia. El 17 de abril de 2008, cuando la semilla alcanzó la talla $26,4 \pm 6,7$ mm de altura, fue cul-

tivada en cestas suspendidas a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad en la batea experimental del IEO de A Coruña (Fig. 5.2.B y 5.3.). Posteriormente, se realizaron 19 muestreos con una periodicidad de 15 días desde esa fecha hasta el 2 de diciembre de 2008.

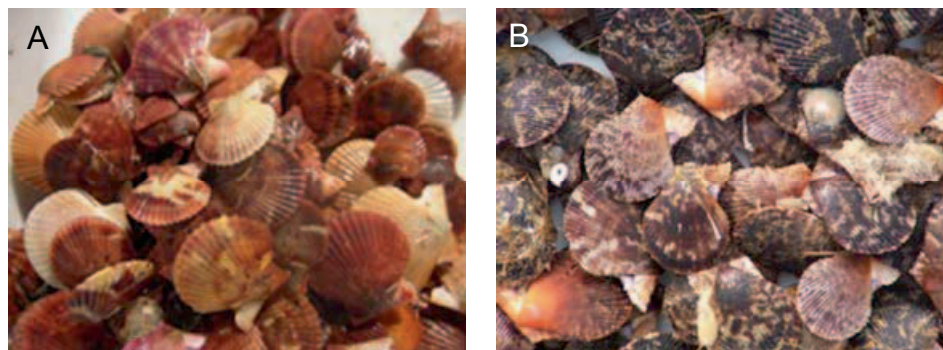


Fig. 5.2. Pectínidos cultivados. A) *Aequipecten opercularis*, B) *Chlamys varia*.

Para cada profundidad se emplearon 3 grupos de 6 cestas, de las que se muestrearon al azar 8-9 moluscos de una cesta de cada grupo, hasta un total de 25 volandeiras y 25 zamburiñas por muestreo.

En cada muestreo quincenal los pectínidos se transportaron hasta el laboratorio, en donde se midieron la altura y la longitud de la concha y se determinó el peso vivo total, incluyendo la concha. Una vez medidas y pesadas, se llevaron a cabo las disecciones, empleando el método descrito por MacPhail (1954) (ver Capítulo 3).

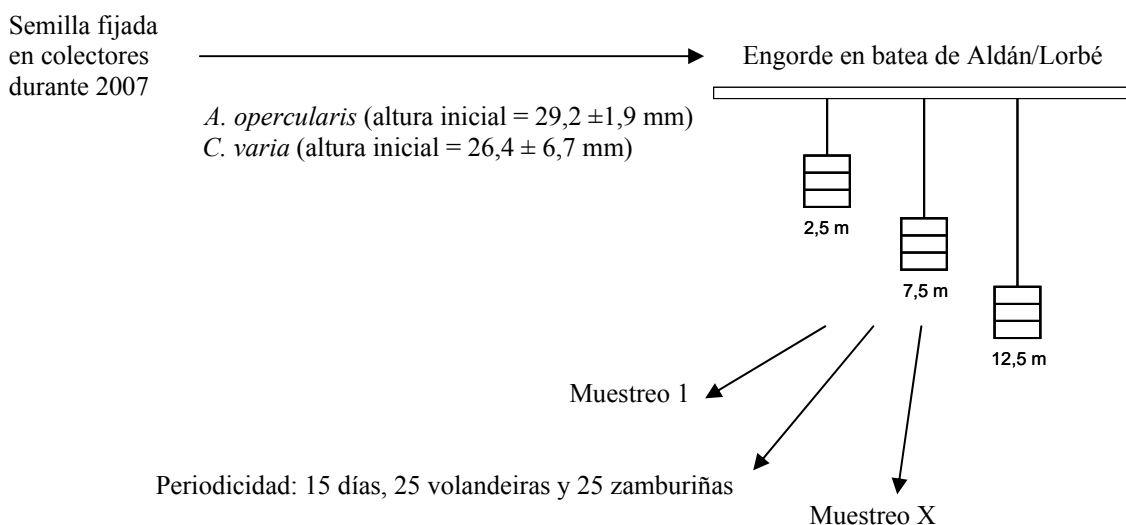


Fig. 5.3. Esquema del estudio del efecto de la profundidad sobre el ciclo reproductor y de reservas.

5.2.3 Cálculo de índices

Tras haber extraído los diferentes órganos (gónada, glándula digestiva y músculo aductor), se calcularon los datos de peso húmedo y peso seco. Para el secado se mantuvieron 24 h en una estufa “SUPER Serving Science” a la temperatura de 100°C. Además, se pesaron las conchas secadas a temperatura ambiente durante 48 h. Con estos datos se calcularon posteriormente los índices de condición gonadal (ICG), de la glándula digestiva (IGD) y muscular (IM).

Peso seco Gónada (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. ICG (%) = (G/C) x 100
Peso seco Glándula (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. IGD (%) = (GD/C) x 100
Peso seco Músculo (g)/ peso seco de la concha (g) x 100. IM (%) = (M/C) x 100

5.2.4 Parámetros ambientales

Los parámetros ambientales fueron analizados semanalmente en las zonas de estudio, Aldán y Ría de Ares-Betanzos, y cedidos por el Instituto Tecnológico del Mar (IN-TECMAR, Xunta de Galicia).

Las medidas fueron tomadas a lo largo de la columna de agua, diferenciando en tres fracciones 0-5, 5-10 y 10-15 metros de profundidad, franjas correspondientes a las tres profundidades de cultivo empleadas (2,5, 7,5 y 12,5 m).

Los datos de temperatura (°C) y salinidad (psu) se recogieron empleando una sonda “CTD 19 plus” (Fig. 5.4). La fluorescencia fue determinada empleando un fluorómetro “WETStar” acoplado a la sonda CTD, obteniendo una medida relativa de clorofila *a* en µg L⁻¹ tras el filtrado de la muestra y su análisis mediante espectrofluorimetría.



Fig. 5.4. Toma de muestras de los parámetros ambientales. A) Embarcación oceanográfica “Lura” del IEO, B) CTD 19 plus.

5.2.5 Tratamientos estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV.

Se emplearon análisis de varianza de un factor (ANOVA) para el análisis de las variables ambientales a las tres profundidades de cultivo en cada ría, el crecimiento de la concha de cada especie y el procesamiento de los datos, tanto del índice de condición gonadal, como de los índices de los tejidos somáticos. Previamente, se comprobó la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad con el test de Bartlett.

5.3 Resultados

5.3.1 Parámetros ambientales en Aldán, Ría de Pontevedra

Las temperaturas fueron similares en las tres profundidades de cultivo desde octubre de 2007 hasta abril de 2008. De abril a septiembre, pero especialmente desde junio hasta septiembre, la temperatura mostró variaciones de hasta 4 °C entre los 2,5 y los 12,5 m de profundidad. Las diferencias fueron menores entre 7,5 y 12,5 m, la mayor parte del tiempo la diferencia de temperatura fue de aproximadamente 0,4 °C, con una diferencia máxima de 1,3 °C en mayo a 7,5 m. En primavera y verano se registraron temperaturas significativamente más altas a 2,5 m (valor medio de 15,2 °C en primavera, 17,4 °C en verano) en comparación con las temperaturas tomadas a 7,5 y 12,5 m (media de los valores de 14,6 y 14,3 °C en primavera, 15,9 y 15,4 °C en verano, a 7,5 y 12,5 m, respectivamente) (ANOVA de un factor, $p < 0,005$) (Fig. 5.5.A).

En general durante todo el año, la salinidad en Aldán osciló entre 35 y 35,8 psu. A pesar de que se observó una caída el 28 de abril a 2,5 m de profundidad con valores mínimos de 32,1 psu, no se registraron diferencias significativas en esta variable entre las tres profundidades de cultivo.

La disponibilidad de alimento fue medida como clorofila *a*. Se registraron valores similares de clorofila *a* en todas las profundidades de cultivo desde el comienzo del experimento hasta primavera. Desde primavera hasta otoño, los valores más altos se registraron a 12,5 m de profundidad (valores medios de 7,6 y 8,4 μg de clorofila *a* L^{-1} en primavera y verano, respectivamente), y los valores más bajos a 2,5 m (valores medios de 2,4 y 3,3 μg clorofila *a* L^{-1} en primavera y verano, respectivamente). Estas diferencias fueron significativas en primavera, siendo $p < 0,005$ (ANOVA de un factor 12,5 m > 7,5 m > 2,5 m), mientras que en verano sólo los valores registrados a 2,5 m fueron significativamente menores que los registrados a 7,5 y 12,5 m (Fig. 5.6.A).

5.3.2 Parámetros ambientales en Lorbé, Ría de Ares-Betanzos

Las temperaturas más altas se registraron a 2,5 m de profundidad, y fueron hasta 3,2 °C mayores que las temperaturas observadas a 7,5 m y 12,5 m de profundidad desde junio a septiembre. A 7,5 m de profundidad se registraron temperaturas ligeramente más altas, aproximadamente 0,5 °C mayores que a 12,5 m, excepto en agosto, cuando se observaron diferencias superiores a 1 °C. En primavera y verano la temperatura del agua fue significativamente mayor a 2,5 m (valor medio de 15,6 °C en primavera, 18,1 °C en verano) que a 7,5 y 12,5 m (valores medios de 15,0 y 14,7 °C en primavera, 16,7 y 16,3 °C en verano, a 7,5 y 12,5 m, respectivamente) (ANOVA de un factor, $p < 0,005$) (Fig. 5.5.B).

La mayor parte del año, la salinidad en la Ría de Ares-Betanzos osciló entre 35 y 35,5 psu, aunque hubo algunas caídas, especialmente a 2,5 m de profundidad, donde se registró un valor mínimo de 32,4 psu el 28 de abril. En primavera la salinidad fue significativamente menor a 2,5 que a 12,5 m (valores medios de 34,9 y 35,5 psu, respectivamente) (ANOVA de un factor, $p < 0,005$).

En general se registraron valores superiores de clorofila *a* en esta ría a 12,5 m. Durante la primavera se registraron valores significativamente más altos a 12,5 m de profundi-

dad (valor medio de clorofila *a* 6,9 $\mu\text{g L}^{-1}$) que a menores profundidades (valores medios de 2,3 $\mu\text{g clorofila } a \text{ L}^{-1}$ a 2,5 m y 3,7 $\mu\text{g clorofila } a \text{ L}^{-1}$ a 7,5 m de profundidad), mientras que en verano los valores fueron mayores a 12,5 m (valor medio de 9,0 $\mu\text{g clorofila } a \text{ L}^{-1}$) que a 2,5 m (valor medio 3,4 $\mu\text{g clorofila } a \text{ L}^{-1}$). A 7,5 m de profundidad se registraron valores intermedios (ANOVA de un factor, $p < 0,005$) (Fig. 5.6.B).

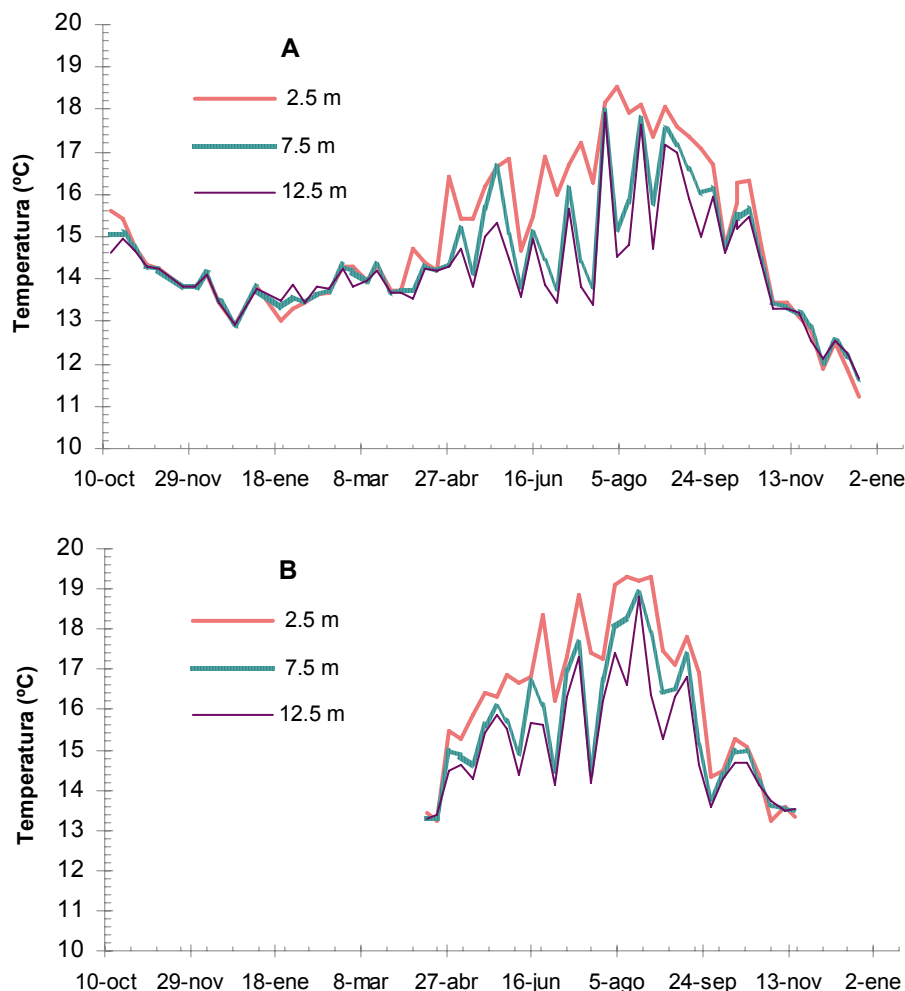
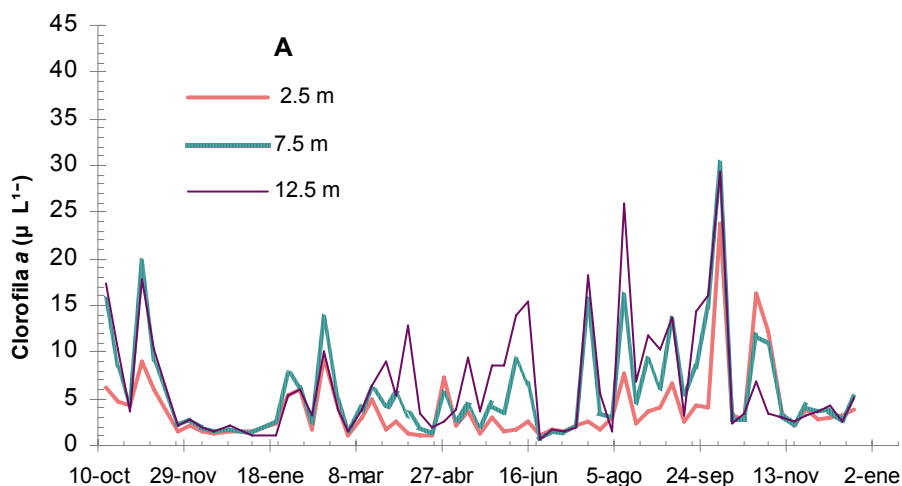


Fig. 5.5. Temperatura del agua en Aldán (A) y Lorbé (B) a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.



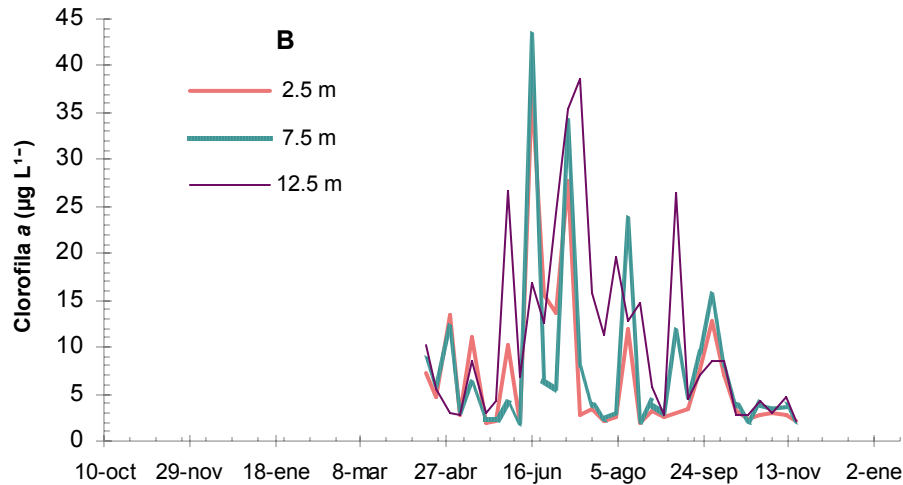


Fig. 5.6. Clorofila *a* en el agua en Aldán (A) y Lorbé (B) a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.

5.3.3 Crecimiento de la concha

Aequipecten opercularis. Al finalizar el experimento, en enero de 2009, las volandeiras alcanzaron una altura media de 51 a 53 mm. Las tasas de crecimiento más altas se registraron en invierno y primavera, y fueron menores en verano y otoño. Aunque hubo un crecimiento ligeramente inferior a 2,5 m no hubo diferencias significativas en el crecimiento de *A. opercularis* en las tres profundidades analizadas (Fig. 5.7.).

Chlamys varia. El crecimiento de *C. varia* fue superior a 12,5 y 7,5 m que a 2,5 m de profundidad, y se registraron diferencias significativas desde el principio de otoño (Fig. 5.7.). Al finalizar el experimento, en diciembre de 2008, los valores medios de altura de la zamburiña fueron $41,6 \pm 3,3$ mm a 12,5 m, $42,2 \pm 4,2$ mm a 7,5 m y $> 38,9 \pm 3,1$ mm a 2,5 m (ANOVA de un factor, $p < 0,005$).

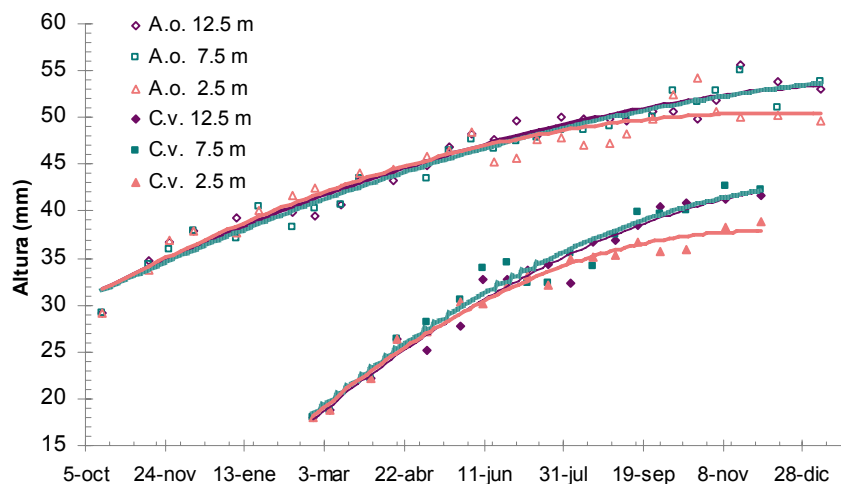


Fig. 5.7. Crecimiento de la concha de *Aequipecten opercularis* (símbolos abiertos) y *Chlamys varia* (símbolos coloreados), cultivadas en suspensión a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.

A. opercularis muestra una tasa de crecimiento superior a *C. varia* alcanzando la talla comercial (altura superior a 50 mm) tras un año de cultivo en suspensión, mientras que *C. varia* necesitará un año más de cultivo para alcanzar la talla comercial (Iglesias, datos no publicados).

5.3.4 Crecimiento gonadal

***Aequipecten opercularis*.** En el área de estudio, el desarrollo de la primera gónada comienza en otoño después del asentamiento en primavera-verano. En consecuencia, al inicio del estudio, la gónada ya había comenzado a desarrollarse cuando las volandeiras tenían cinco meses de edad. El índice de condición gonadal (ICG) mostró una tasa de crecimiento exponencial en enero, alcanzando máximos en fechas diferentes de acuerdo a la profundidad de cultivo (Fig. 5.8.A). Las disminuciones en los valores de ICG fueron considerados como desoves si se registraban diferencias significativas empleando ANOVAs de un factor. Por lo tanto, el período de puesta inició el 26 de febrero a 7,5 m, el 25 de marzo a 2,5 m, y 15 de abril a 12,5 metros de profundidad y continuó hasta principios de julio, mostrando un patrón diferente en las tres profundidades. A 2,5 m se obtuvo un pico el 25 de marzo (ICG=2,40) y otro el 3 de junio (3,65). A 7,5 m hubo tres picos, el 26 de febrero (2,14), 15 de abril (2,72) y 3 de junio (3,69), mientras que a 12,5 m de profundidad se registraron dos picos (3,53 y 5,67), coincidiendo con los últimos dos picos a 7,5 m. A 7,5 y 12,5 m, a medida que avanzaba la temporada los picos se hicieron mayores y los descensos más pronunciados, lo que indica que fue liberado un mayor número de gametos. Pasado el mes de junio la gónada liberó todos los gametos en todas las profundidades, y se alcanzaron los valores mínimos del año el 29 de julio (0,14-0,51), momento en el que comenzó un período de reposo. A 2,5 m se registró un nuevo crecimiento gonadal, con valores máximos (ICG=2,67) el 25 de septiembre. El desarrollo gonadal parece detenerse a 7,5 y 12,5 m, y después de un patrón oscilante no se produjo un desarrollo gonadal completo en toda la población hasta el 8 de enero, cuando los valores fueron muy similares en todas las profundidades, oscilando entre valores de 2,08 y 2,54.

El valor máximo y significativo del índice de condición gonadal, se registró el 3 de junio a 12,5 m, después de un período en el que la temperatura del agua de mar fue significativamente menor y los valores de clorofila *a* fueron significativamente mayores que en las otras profundidades de cultivo.

***Chlamys varia*.** Al inicio del experimento, en abril, la gónada de *C. varia* ya había comenzado a desarrollarse. El crecimiento gonadal fue más lento a 7,5 y 12,5 m de profundidad, pero el 27 de mayo, el ICG fue similar en todas las profundidades (2,00-2,17). Mientras a 2,5 m la gónada siguió creciendo hasta alcanzar un máximo el 10 de junio (ICG=2,78), a 12,5 m se observó una pequeña pero significativa disminución en este valor, probablemente asociada a un primer desove. La puesta también comenzó en esa fecha a 7,5 m, mientras que el desove se inició el 10 de junio a 2,5 m. Las zamburiñas cultivadas a 2,5 y 7,5 m de profundidad, desovaron durante el mes de junio, las cultivadas a 7,5 m continuaron en puesta hasta el 4 de agosto, mientras que las cultivadas a 2,5 m siguieron desovando intensamente durante la primera quincena de septiembre. Por el contrario, a 12,5 m de profundidad la gónada se recuperó después de la puesta de mayo hasta alcanzar un nuevo máximo el 9 de julio. Después de un aumento de temperatura entre el 10 de junio y 23 de junio (de 16,8 a 18,4 °C), se registró un nuevo desove a 12,5 m que finalizó el 4 de agosto. Se registró un valor mínimo y significativo del ICG en esta fecha en las zamburiñas cultivadas a 7,5 y 12,5 m de profundidad, a continuación, el ICG incrementó significativamente en estas profundidades, a un ritmo más rápido, pero menos intenso a 7,5 m. Después de recuperarse la gónada en la primera quincena de septiembre se produjo una liberación completa de los gametos. Posteriormente, la gónada entró en fase de reposo hasta la siguiente temporada (Fig. 5.8.B).

A 2,5 m se registró un periodo continuo de puesta desde finales de la primavera hasta finales de verano. A 7,5 y 12,5 m el periodo de puesta principal tuvo lugar entre el final de la primavera y principios del verano. Una segunda puesta, más corta y más rápida se inició el 1 de septiembre, más intensa a mayor profundidad, que finalizó a mediados de septiembre. A 7,5 y 12,5 m la puesta comenzó después de que la temperatura del agua del mar alcanzase los 16,0 °C.

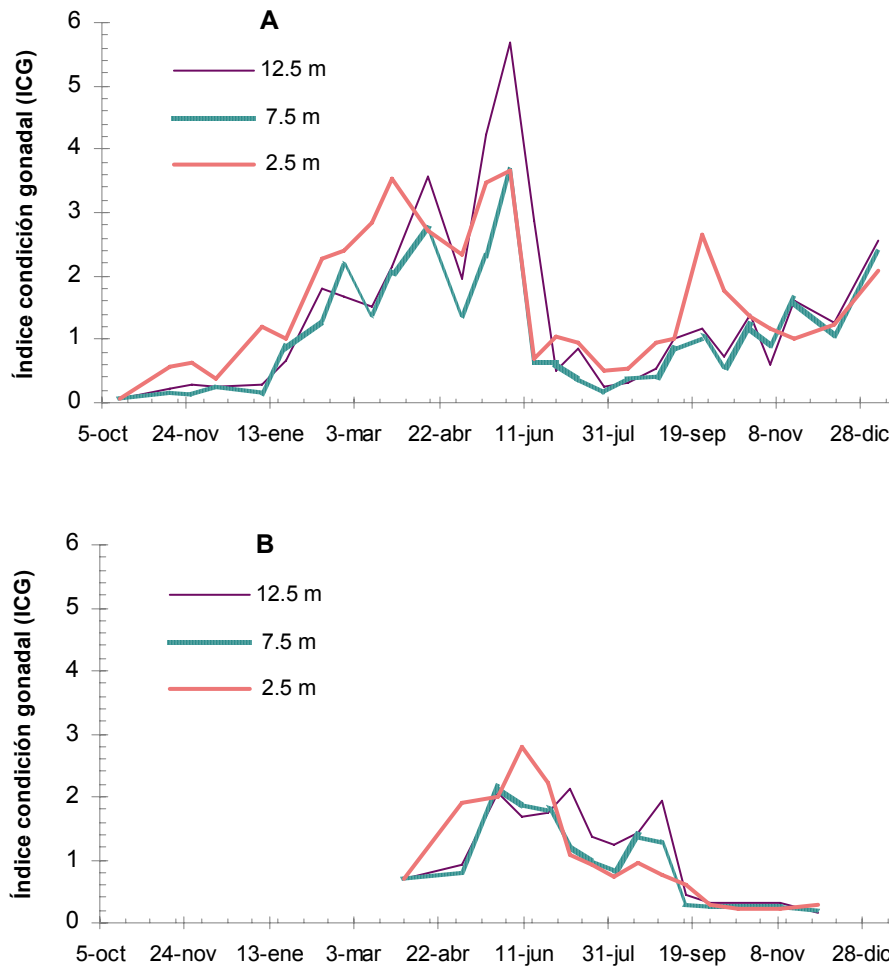


Fig. 5.8. Variación del índice de condición gonadal de *Aequipecten opercularis* (A) y *Chlamys varia* (B) cultivadas en suspensión a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.

5.3.5 Crecimiento de los tejidos somáticos

***Aequipecten opercularis*.** Al inicio del estudio se registró una disminución tanto en el índice de condición de la glándula digestiva (IGD) como en el índice de condición del músculo aductor (IM), probablemente relacionado con las condiciones de invierno cuando hay poco alimento en el agua y la energía necesaria para el mantenimiento metabólico y desarrollo gonadal debe ser suministrada por la energía almacenada en el músculo y la glándula digestiva. Desde mediados de enero, se observó un crecimiento rápido y simultáneo de la gónada y de la glándula digestiva, especialmente a 12,5 m, donde el IGD alcanzó los valores más altos de primavera al mismo tiempo que el ICG. A 7,5 m de profundidad la glándula digestiva dejó de crecer en marzo, coincidiendo con el segundo desove, pero comenzó a aumentar de nuevo al mismo tiempo que la gónada,

antes de desencadenarse el tercer desove. A 2,5 m se registró menor crecimiento de la glándula, mostrando dos picos simultáneos con los valores máximos de la gónada (Fig. 5.9.A). En general, el IGD aumenta antes de la puesta y disminuye después de la puesta. Después de alcanzar valores mínimos en todas las profundidades, en julio el IGD y el ICG de las volandeiras mantenidas a 2,5 m aumentaron simultáneamente hasta producirse un desove el 25 de septiembre. Los valores siguieron en continuo descenso hasta alcanzar valores mínimos en enero. A 7,5 y 12,5 m, el crecimiento gonadal aparentemente se detuvo, y los valores máximos registrados en el IGD estuvieron asociados con pequeños picos en el ICG pero no hubo un desarrollo gonadal completo, lo que sugiere que la transferencia de energía desde la glándula digestiva hasta la gónada fue interrumpida. La disminución del IGD durante el invierno comenzó el 19 de noviembre tanto a 7,5 como a 12,5 m, lo que conlleva el comienzo de una nueva maduración gonadal.

El IM, tras disminuir en invierno, al igual que el IGD, aumentó de forma continuada desde enero hasta alcanzar valores máximos a finales del verano. Se observaron valores significativamente mayores a 12,5 m de profundidad entre mayo y junio, al igual que en el IGD (Fig. 5.10.A). El aumento del IM en primavera y el verano parece ser independiente del desarrollo gonadal. A 2,5 m se alcanzó el valor máximo el 9 de septiembre y después el crecimiento muscular disminuyó repentinamente, tal y como ocurrió en la glándula digestiva. A 7,5 y 12,5 m los valores del IM se mantuvieron entre el 9 de septiembre y 19 de noviembre antes de que un rápido descenso hasta valores mínimos en enero. Los valores registrados en otoño a 7,5 m fueron significativamente mayores que los observados a 12,5 m de profundidad.

***Chlamys varia*.** Al inicio del experimento, en primavera, se registraron valores bajos tanto en los índices de condición del músculo aductor como de la glándula digestiva, ya que la energía almacenada en ambos órganos estaba siendo empleada para alimentar las necesidades energéticas de la gónada. De hecho, sólo el 27 de mayo, cuando los índices gonadales habían alcanzado los valores máximos de primavera, fue cuando los índices de condición muscular y de la glándula digestiva comenzaron a aumentar. Ambos índices mantuvieron valores altos durante el verano mientras la gónada estaba en puesta, comenzaron a disminuir en otoño y alcanzaron valores mínimos en invierno, cuando la gónada se encontraba en la fase de reposo. Aunque el IGD aumentó más rápidamente en primavera a 2,5 m, probablemente debido a las altas temperaturas registradas a esa profundidad, tanto los índices de condición de la glándula digestiva como del músculo aductor mostraron el mismo patrón, independientemente de la profundidad a la que se cultivaron las zamburiñas (Figuras 5.9.B y 5.10.B).

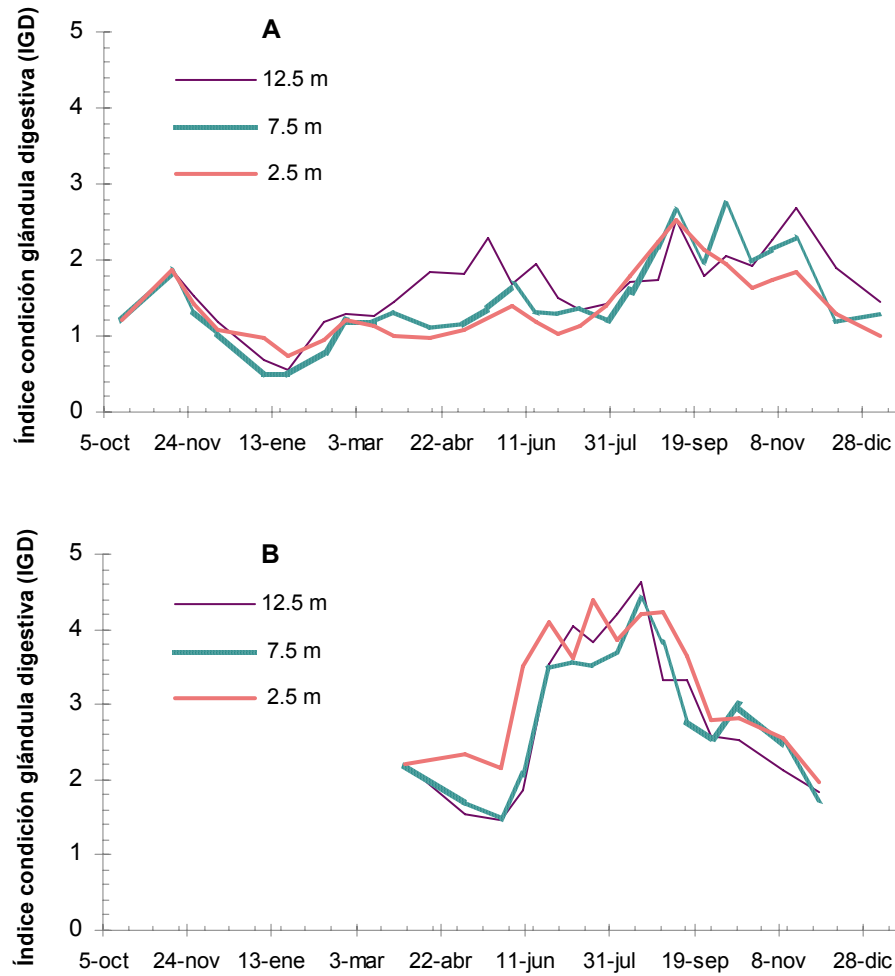
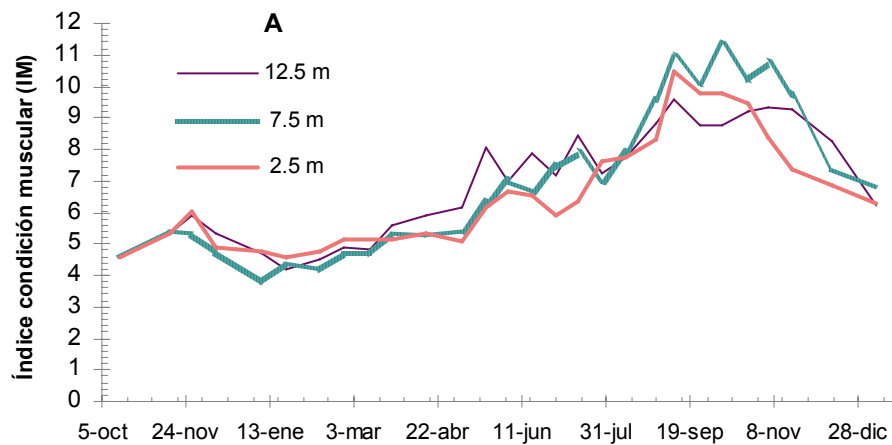


Fig. 5.9. Variación del índice de condición de la glándula digestiva de *Aequipecten opercularis* (A) y *Chlamys varia* (B) cultivadas en suspensión a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.



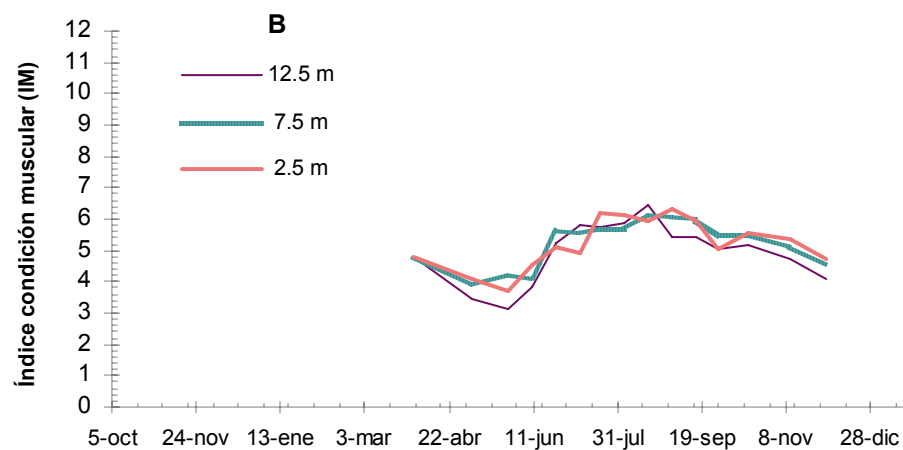


Fig. 5.10. Variación del índice de condición del músculo aductor de *Aequipecten opercularis* (A) y *Chlamys varia* (B) cultivadas en suspensión a 2,5, 7,5 y 12,5 m de profundidad.

5.4 Discusión

5.4.1 Parámetros ambientales

En las dos áreas de estudio, Aldán-Ría de Pontevedra y Ría de Ares-Betanzos, se registraron altas temperaturas y bajos niveles de clorofila *a* en aguas poco profundas durante las estaciones de primavera y verano. A pesar de que la baja salinidad puede ser un riesgo cuando los pectínidos se cultivan en suspensión a poca profundidad, el rango de variación registrado durante los experimentos no afectó el crecimiento o el metabolismo de los pectínidos. De acuerdo con los resultados obtenidos por Paul (1980a) trabajando con *A. opercularis*, no se espera mortalidad cuando se combinan los bajos valores de salinidad (32,6 psu) con temperaturas de 16,4 °C registrados en este estudio. En consecuencia, consideramos que las diferencias observadas en los índices de condición de los diferentes órganos fueron producidas por las variaciones en la temperatura y la disponibilidad de alimento.

5.4.2 Tendencias generales del patrón reproductivo y de almacenamiento de reservas

Es de esperar que existan diferencias en el comportamiento reproductivo entre los moluscos salvajes y los cultivados en suspensión, ya que las condiciones ambientales que afectan al cultivo en suspensión se consideran más favorables para el crecimiento, principalmente por su mayor disponibilidad de alimento.

El ciclo reproductor y el ciclo de reservas de *A. opercularis* han sido descritos en una población natural de la cercana Ría de Arousa (Román *et al*, 2002). En esta población, el ICG muestra cuatro picos (1,81-2,05) en el comienzo de la temporada de puesta (a finales de febrero-principios de marzo), y los valores disminuyen progresivamente a medida que avanza la temporada hasta que se produce la última puesta al final del mes de julio (0,64-0,86). En este estudio, el periodo de puesta comenzó en fechas similares (7,5 y 2,5 m) o un poco más tarde (12,5 m), y finalizó en la misma fecha; sin embargo, sólo se registraron dos (2,5 y 12,5 m) o tres picos (7,5 m), a pesar de que se alcanzaron valores considerablemente más altos (3,53-3,65 a 2,5 m, 2,15, 2,72 y 3,67 a 7,5 m y de 3,57-5,68 a 12,5 m). Durante el invierno los índices de condición de los órganos de reserva de la población natural disminuyeron durante un período más largo, y por lo tanto la recuperación tuvo lugar después, en abril. Los máximos en los índices de condición mostraron valores inferiores a los registrados en los animales mantenidos en cultivo en suspensión (comparar IGD, 1,4-1,7 frente a 2,5; IM, 7,0-8,5 frente a 9,0-11,0, en las poblaciones naturales y cultivo en suspensión, respectivamente).

No existe información previa sobre el ciclo reproductor de las poblaciones salvajes de *C. varia* en Galicia. En Francia e Irlanda (Lubet, 1959; Lucas, 1965; Burnell, 1983) se describen dos períodos principales de puesta, el primero se produce por lo general entre los meses de mayo-junio y el segundo a final del verano, resultados similares al ciclo que nosotros observamos a 7,5 y 12,5 m, pero no a 2,5 m de profundidad, donde se registró un sólo periodo de puesta prolongado. Los pectínidos cultivados a diferentes profundidades experimentales siguieron las tendencias generales de comportamiento registradas en los bivalvos salvajes, aunque se observaron algunas diferencias en relación a los cambios en las condiciones ambientales.

5.4.3 Patrones reproductivos

En este estudio se observó que *A. opercularis* emplea las reservas almacenadas en invierno, mientras la gónada se está desarrollando, pero a partir de enero, utiliza la energía externa proporcionada por el alimento para el crecimiento gonadal y somático, a pesar de que la recuperación de la gónada tiene lugar de julio a septiembre. El crecimiento de los tejidos somáticos empezó a disminuir en otoño. Se inició antes a 2,5 m de profundidad, y se produjo al mismo tiempo que el comienzo del siguiente período de desarrollo gonadal. A 7,5 y 12,5 m la disminución tuvo lugar simultáneamente al período de desarrollo gonadal, que se produjo en enero del segundo año. El mantenimiento metabólico también puede estar implicado en la disminución del crecimiento de los tejidos somáticos desde finales de otoño hasta invierno, ya que los valores de clorofila *a* son los más bajos en esta época del año.

Según los resultados de este capítulo y en consonancia con los resultados obtenidos en el Capítulo 3, *A. opercularis* se comporta de manera conservadora en otoño e invierno, y de forma oportunista en primavera y verano. *C. varia*, sin embargo, sigue una estrategia oportunista, excepto durante un breve período en el comienzo de la primavera, cuando la gónada empieza su desarrollo, que es conservadora.

5.4.4 Efecto de las condiciones ambientales sobre las tendencias generales

Se observaron ciertas desviaciones de las tendencias generales en relación a las condiciones ambientales. En *A. opercularis* cultivada a 2,5 m de profundidad, el IGD disminuyó desde el 9 de septiembre, probablemente debido a los bajos valores de clorofila *a* y al aumento en el ICG, que sólo se produjo en esta profundidad. A 7,5 y 12,5 m el IGD sufrió oscilaciones, aunque hubo una tendencia creciente hasta el 19 de noviembre. Posteriormente el IGD disminuyó, debido a los bajos valores de clorofila *a* y al aumento del ICG. Es interesante observar el comportamiento de la gónada desde mediados de agosto hasta mediados de octubre en las diferentes profundidades. A 7,5 y 12,5 m el desarrollo gonadal se detuvo. A estas profundidades se produjeron cambios bruscos de temperatura que oscilaron entre 14,6 y 17,8 °C, mientras que a 2,5 m se observó una disminución lenta de 18,1 a 15,8 °C. Aunque los estudios sobre la temperatura máxima letal para *A. opercularis* han demostrado que la mortalidad se produce entre 19 y 24 °C (Paul, 1980b) y McLusky (1973) sugirió que 20 °C es aproximadamente la temperatura letal, en este estudio las volandeiras fueron capaces de comenzar el desarrollo gonadal con las altas temperaturas observadas en 2,5 m, mientras que a 7,5 y 12,5 m el desarrollo gonadal se detuvo. Tal vez las volandeiras cultivadas a 2,5 m se aclimataron a las altas temperaturas, mientras que los ejemplares mantenidos en aguas más profundas sufrieron estrés por los cambios bruscos de temperatura.

El ICG aumentó rápidamente durante el invierno y el desove comenzó poco después de registrarse picos de clorofila *a*. Las bajas temperaturas registradas durante el invierno en Aldán no parecen haber afectado negativamente al crecimiento de la volandeira, ya que mostró un crecimiento gonadal y somático más rápido entre los meses de febrero y abril, con temperaturas entre 13,5-14,5 °C. De hecho, comenzaron la puesta a temperaturas de 14,0-14,5 °C y el desove se produjo en todas las profundidades a temperaturas de entre 14,0 y 15,5 °C. Sin embargo, las altas temperaturas de verano y principios del otoño sí produjeron un efecto negativo, excepto a 2,5 m en donde las volandeiras se

aclimataron a la temperatura. El período de reposo se produjo cuando la temperatura del agua del mar mostró valores más elevados.

En primavera a 12,5 m, cuando la disponibilidad de alimento era significativamente más alta y la temperatura menor, la gónada, músculo aductor y glándula digestiva de *A. opercularis* crecieron de forma simultánea durante el período de mayor actividad gametogénica. A menores profundidades, donde la abundancia de alimento era menor y la temperatura mayor, se produjo una transferencia de energía desde la glándula digestiva hacia la gónada o bien las condiciones ambientales no fueron adecuadas para el crecimiento de la glándula digestiva. En consecuencia, la gónada, músculo aductor y glándula digestiva mostraron valores significativamente más altos a 12,5 m de profundidad. Por el contrario, se registraron valores significativamente más bajos en el IGD e IM a 2,5 m en julio, cuando la temperatura alcanzó valores mayores que en las otras profundidades (16,7 a 17,2 frente a 13,8 a 16,1 °C).

En *Chlamys varia*, la fecha del primer desove podría estar relacionada con la temperatura del agua de mar. Lucas (1965) propuso que 15 °C es la temperatura mínima de puesta de *C. varia*, mientras Burnell (1983) observó que la caída en el índice de condición gonadal durante el verano coincidía por lo general con un pequeño aumento de temperatura de 1-2 °C por encima de 15,5 o 16,0 °C. Los resultados de este estudio coinciden con estos autores, ya que las gónadas de las zamburiñas cultivadas a 7,5 y 12,5 m comenzaron a liberar los gametos en mayo, inmediatamente después de que la temperatura del agua del mar alcanzase los 16,0 °C. Esto no ocurrió así en las zamburiñas mantenidas a 2,5 m, que iniciaron el desove más tarde, en junio con 16,5 °C. Es posible que no sólo sea necesario alcanzar un umbral de temperatura mínima, sino también que los gametos necesiten haber madurado. En comparación con aguas más profundas, a 2,5 m la abundancia de alimento era menor, y éste es necesario para la maduración de los gametos.

A 2,5 m de profundidad, desde principios de mayo hasta el 22 de septiembre, la temperatura del agua del mar estuvo siempre por encima de los 16,0 °C, pero la puesta no tuvo lugar hasta el 10 de junio. El crecimiento más rápido y el ICG máximo registrados a 2,5 m a principios de primavera están probablemente relacionados con las altas temperaturas, sin embargo, la puesta se llevó a cabo más tarde, cuando el agua del mar alcanzó temperaturas superiores a 16,5 °C. Por lo tanto, las altas temperaturas combinadas con una menor disponibilidad de alimento pueden estar asociadas a un crecimiento más rápido, pero también a una maduración gonadal más lenta. Por ello, los gametos no están lo suficientemente maduros para ser liberados, independientemente de llegar a la temperatura apropiada. A 12,5 y 7,5 m, donde hay una mayor disponibilidad de alimento, los gametos maduran antes y una temperatura de 16 °C es suficiente para estimular la puesta. El cese de la puesta a 7,5 y 12,5 m de mediados de julio está relacionado con una caída de temperatura por debajo de 16,0 °C a 7,5 m (14,4 °C) y 12,5 m (14,3 °C) pero no a 2,5 m (17,4 °C). Después se produjo una significativa recuperación del ICG a 7,5 y 12,5 m, pero no se observó a 2,5 m de profundidad.

Las dos especies de pectínidos tienen diferentes requerimientos de temperatura. *Chlamys varia* requiere un mínimo de 16 °C para iniciar el desove, que se detiene debajo de este valor, mientras que valores de 14,0-14,5 °C son suficientes para estimular la puesta de *Aequipecten opercularis*. El crecimiento gonadal se acelera con temperaturas más altas, como se puede ver en el crecimiento de la primera gónada en ambas especies, pero la temperatura como único factor no indica maduración de los gametos, a pesar de

producir un crecimiento más rápido, se requiere del alimento para la maduración gametogénica. Como conclusión, la temperatura, en los rangos de tolerancia para cada especie, afecta a la tasa de crecimiento de la gónada y de los tejidos somáticos además de desencadenar la puesta, mientras que la disponibilidad de alimento influencia el crecimiento y la cantidad de energía almacenada y permite la maduración de los gametos.

5.4.5 Comparación entre especies

Las especies estudiadas muestran diferentes patrones reproductivos (desarrollo gonadal y de los órganos de almacenamiento de reservas, estacionalidad de la temporada de cría y requerimientos ambientales, principalmente de temperatura). La gónada de *A. opercularis* está activa durante periodo del año más largo y alcanza valores más altos en el ICG, con valores máximos que duplican los registrados en *C. varia*. Además, *A. opercularis* muestra un periodo de reposo muy corto a mediados de verano, mientras que por el contrario en *C. varia* el periodo de reposo abarca desde el otoño hasta el final del invierno.

El IGD de *C. varia* muestra valores superiores durante un corto periodo de tiempo, entre julio y agosto, llegando hasta máximos que casi duplican los valores alcanzados por la glándula digestiva de *A. opercularis*. Los valores máximos de la glándula digestiva se alcanzan en verano, justo en la época en que *A. opercularis* muestra valores mínimos; de manera opuesta, *A. opercularis* presenta una evolución más compleja, probablemente relacionada con la estrategia conservadora y que está más afectada por pequeñas diferencias en las condiciones ambientales, mostrando máximos en primavera y otoño.

La evolución del IM sigue el mismo patrón que el IGD en el caso de *C. varia*, registrándose valores máximos a finales de verano. Como ocurre en el IGD, la evolución del IM no parece estar afectada por las diferencias en las condiciones ambientales observadas en las profundidades experimentales. Sin embargo, en *A. opercularis*, el alimento y la temperatura se relacionan con las diferencias en la evolución de este índice. En esta especie el IM aumenta durante un periodo más largo alcanzando valores máximos a finales de noviembre, antes de que la energía almacenada sea empleada para satisfacer las demandas gametogénicas.

En el caso de *C. varia*, después de proporcionar la energía para el inicio de la gametogénesis, probablemente provocada por el fotoperíodo (Louro *et al.*, 2005) y cuando se ha alcanzado la maduración gonadal, el IM y el IGD aprovechan las condiciones ambientales favorables (alta disponibilidad de alimento y temperatura) para desarrollarse y almacenar reservas durante un periodo rápido y corto según su condición oportunista.

5.5 Conclusiones

- Este trabajo proporciona información útil tanto para una mejor comprensión de los requerimientos de estas especies, como para optimizar su acuicultura. Se ha demostrado que pequeños cambios ambientales asociados con la profundidad de cultivo producen cambios significativos en los patrones generales de reproducción y de almacenamiento de energía.
- El crecimiento de los pectínidos a profundidades de entre 7,5 y 12,5 m ofrece mejores resultados, pudiéndose obtener ejemplares significativamente mayores (*Chlamys varia*) y con más contenido en carne (*Aequipecten opercularis*), de acuerdo a la fecha de extracción de los moluscos. Por otra parte, aunque no se registraron valores bajos de salinidad en la capa superior durante este estudio, el cultivo de pectínidos en suspensión en aguas poco profundas puede ser un riego en años lluviosos.
- Las especies estudiadas muestran diferentes patrones reproductivos. La gónada de *A. opercularis* está activa durante un periodo más largo y alcanza valores en el ICG que duplican los registrados en *C. varia*. Además, *A. opercularis* muestra un periodo de reposo muy corto a mediados de verano, mientras que en *C. varia* el periodo de reposo abarca desde el otoño hasta el final del invierno.
- El IGD de *C. varia* muestra valores superiores durante un corto período de tiempo, entre julio y agosto, llegando casi a duplicar los máximos alcanzados por *A. opercularis*. Los valores máximos de la glándula digestiva se alcanzan en verano, justo en la época en que *A. opercularis* muestra valores mínimos; de manera opuesta, *A. opercularis* presenta una evolución más compleja y que está más afectada por pequeñas diferencias en las condiciones ambientales, mostrando máximos en primavera y otoño.
- La evolución del IM sigue el mismo patrón que el IGD en el caso de *C. varia*, registrándose valores máximos a finales de verano. Como ocurre en el IGD, la evolución del IM no parece estar afectada por las diferencias en las condiciones ambientales observadas en las profundidades experimentales. Sin embargo, en *A. opercularis*, el alimento y la temperatura se relacionan con las diferencias en la evolución de este índice. En esta especie el IM aumenta durante un período más largo alcanzando valores máximos a finales de noviembre, antes de que la energía almacenada sea empleada para satisfacer las demandas gametogénicas.
- *A. opercularis* emplea las reservas almacenadas en invierno, mientras la gónada se está desarrollando, pero a partir de enero, utiliza la energía externa proporcionada por el alimento para el crecimiento gonadal y somático.
- En *C. varia*, en invierno la energía almacenada sólo se destina al mantenimiento del metabolismo, pero en la primavera la gónada empieza a desarrollarse a expensas de los tejidos somáticos.
- *A. opercularis* cultivada en suspensión en las rías gallegas se comporta de manera conservadora en otoño e invierno, y de forma oportunista en primavera y verano. *C. varia*, sin embargo, sigue una estrategia oportunista, excepto durante un

breve período en el comienzo de la primavera, cuando la gónada empieza su desarrollo, que es conservadora.

- Las dos especies de pectínidos tienen diferentes requerimientos de temperatura. *A. opercularis* inicia el desove a temperaturas de entre 14,0-14,5 °C, mientras *C. varia* requiere un mínimo de 16 °C para iniciar el desove. El crecimiento gonadal se acelera por temperaturas más altas, como se puede ver en el crecimiento de la primera gónada en ambas especies, pero la temperatura como único factor no indica maduración de los gametos, a pesar de producir un crecimiento más rápido, se requiere del alimento para la maduración gametogénica.
- La temperatura, en los rangos de tolerancia para cada especie, afecta a la tasa de crecimiento de la gónada y de los tejidos somáticos además de desencadenar la puesta, mientras que la disponibilidad de alimento influencia el crecimiento y la cantidad de energía almacenada y permite la maduración de los gametos.
- Este estudio proporciona información que puede ser útil para el acondicionamiento de estas especies. Manteniendo *A. opercularis* por debajo de los 14 °C y *C. varia* por debajo de los 16 °C y proporcionándoles suficiente alimento, se pueden producir gametos abundantes que pueden ser fácilmente liberados con un aumento ligero de temperatura, al menos en el caso de *C. varia*, pues *A. opercularis* ha demostrado ser una especie difícil de desovar en condiciones de laboratorio (Le Pennec, 1982; Beaumont & Hall, 1999; De la Roche *et al.*, 2003).
- *C. varia* es especialmente interesante porque en condiciones naturales, la mayor parte de la semilla se asienta en colectores a mediados de primavera y principios de verano, al mismo tiempo que la estrella de mar *Asterias rubens*, que elimina toda la semilla. El asentamiento originado por la segunda puesta de la zamburiña, a final de verano, apenas es depredado por la estrella de mar, ya que el asentamiento de esta especie ya ha finalizado en esta fecha. En este sentido, se pueden emplear los conocimientos sobre el ciclo gonadal de *C. varia*, cultivando las zamburiñas en aguas más profundas, para producir una segunda puesta mayor después del asentamiento de la estrella de mar.



**6 –Captación de semilla de pectínidos
en las rías gallegas empleando
colectores artificiales**

CAPTACIÓN DE SEMILLA DE PECTÍNIDOS EN LAS RÍAS GALLEGAS EMPLEANDO COLECTORES ARTIFICIALES

6.1 Introducción

La disponibilidad de semilla de pectínidos de forma abundante, barata y fiable es uno de los puntos clave en el desarrollo de la pectinicultura. Este hecho ha motivado a nivel mundial el desarrollo de tecnologías eficaces para la captación de semilla producida en el medio natural, técnicas para la obtención de puestas inducidas en hatchery o incluso se ha utilizado la combinación de ambas técnicas (Román *et al.*, 2001d).

Para optimizar la captación de semilla de pectínidos mediante colectores es imprescindible conocer el momento en que tiene lugar el asentamiento. Por ello, en este tipo de estudios se considera fundamental un conocimiento previo del ciclo de vida de las especies objetivo, así como de las épocas en las que tienen lugar los desoves, ya que lo que se pretende es predecir los máximos de reclutamiento (Román, 1991; Barber & Blake, 1991; Narvarte, 1995; Peña *et al.*, 1996). Sin embargo, ha de tenerse en cuenta que los picos en la actividad reproductora, no siempre se traducen en grandes reclutamientos, debido a la interacción de diversos factores ambientales.

Ciclo de vida de los pectínidos

Los pectínidos presentan un ciclo de vida que incluye un estadio larvario planctónico y un estadio adulto bentónico (Fig. 6.1.). Cuando alcanzan la madurez sexual, los pectínidos liberan los gametos al mar donde tiene lugar la fertilización y el comienzo del desarrollo embrionario (Román *et al.*, 2002). Tras culminar el proceso de ovogénesis y alcanzar la maduración ovocitaria, de la que se habla con detalle en el capítulo de histología, los pronúcleos femenino y masculino se fusionan para dar lugar al cigoto. Las divisiones celulares comienzan antes de que transcurran 30 minutos desde la fecundación. Estas divisiones tienen lugar en zonas bentónicas debido a que el cigoto pesa más que el agua y se hunde, y su duración dependerá de cada especie de pectínido y de las condiciones ambientales (Helm *et al.*, 2006).

Tras el desarrollo embrionario aparece la primera forma larvaria, aproximadamente a las 24 h., la larva trocófora (1), que tiene una vida muy corta, entre 11 y 24 h. Es una larva piriforme y está provista de un sistema ciliar que le permite nadar y girar sobre sí misma; posee una glándula de la concha, se alimenta de sus reservas vitelinas y presenta vida pelágica (De la Roche & Velasco, 2008).

La larva veliger (2) es la segunda larva planctónica que se forma, aproximadamente a las 48 h. tras la fecundación, y tiene una vida de entre 9 y 32 días. Presenta una morfología más compleja que la larva trocófora: concha compuesta por 2 valvas (prodisoconcha I), que se unen en una charnela recta y alargada, confiriendo a las larvas forma de "D"; posee un velo desarrollado que funciona como órgano de locomoción y alimentación; un sistema digestivo completo diferenciado en esófago, estómago e intestino, se alimenta de fitoplancton y otras partículas en suspensión; y presenta músculos retractores del velo y un músculo aductor anterior (De la Roche & Velasco, 2008).

Posteriormente, la charnela se curva y se desarrolla el umbo o protuberancia dorsal, pasando a denominarse larva veliger umbonada (3). A partir de esta fase larvaria los

pectínidos se caracterizan por presentar una asimetría específica en la región anterior de la concha. Se secreta la prodisoconcha II, la glándula de la concha se transforma en el manto, se forma la cavidad paleal y se desarrolla el músculo aductor posterior. Esta larva posee ya la capacidad de encerrar completamente su cuerpo entre sus valvas (De la Roche & Velasco, 2008). Estos tres estadios larvarios constituyen toda la fase pelágica de los pectínidos.

Posteriormente, el consumo de lípidos provoca un aumento de la densidad del cuerpo por lo que desciende al fondo y se forma la larva pediveliger (4). Esta larva, aunque presenta naturaleza planctónica, comienza a reptar sobre el fondo con ayuda del pie. Es una larva estructural y funcionalmente equipada para buscar un sustrato donde se asentará para llevar a cabo la metamorfosis y comenzar su vida bentónica (De Aguirre, 1975; Lutz & Kennish, 1992). Es una larva madura y competente, en la que el velo se reduce y forma un pie funcional que empleará para la locomoción, secreción glandular y como órgano táctil. Además está provista de una característica mancha ocular y posee un aparato digestivo diferenciado. Tal como citan De la Roche & Velasco (2008), presenta músculos retractores y músculo aductor posterior y forma los filamentos branquiales primarios cerca del pie.

De unas pocas horas a varios días después de haber alcanzado la madurez o competencia, se produce el asentamiento, que es la toma de contacto de las larvas al sustrato, su adherencia y finalmente la metamorfosis (De la Roche & Velasco, 2008). El momento en que las larvas pediveliger se acercan al fondo y eligen un sustrato para asentarse es el óptimo para poderlas captar mediante colectores. Es un proceso que incluye cambios en el comportamiento de las larvas, ya que éstas descienden del plancton al bentos y ocurre la fijación. En los pectínidos, la fijación sucede gracias a una estructura proteica llamada biso (De la Roche & Velasco, 2008), que es secretada por la glándula bisal y que en algunas especies como *Pecten maximus*, se pierde poco tiempo después del asentamiento, mientras que en otras (*Chlamys varia*) se mantiene durante toda su vida bentónica, aunque tienen la capacidad de desprenderse del biso y volver a formarlo posteriormente.

A partir de este momento se inicia el proceso de la metamorfosis, una serie de cambios morfológicos y fisiológicos irreversibles que se produce en las larvas y ponen fin a la vida pelágica originando las postlarvas. Se reabsorbe el velo, comienzan a funcionar las branquias y se inicia la secreción de la concha definitiva o disoconcha (Uriarte *et al.*, 2002). Según Helm *et al.* (2006) la metamorfosis es una fase crítica en la que ocurren grandes mortalidades, ya que se pierde la movilidad y se reorganiza el cuerpo, desapareciendo algunas estructuras y apareciendo otras nuevas que perdurarán en la vida adulta. Durante esta fase la larva no se alimenta y depende exclusivamente de sus reservas energéticas. De la Roche & Velasco (2008) señalan que el proceso de asentamiento y metamorfosis tiene una duración de aproximadamente 24 h.

Se define como reclutamiento a los individuos asentados (descendencia) que sobreviven un periodo de tiempo arbitrario, en el que se supone que la mortalidad post-asentamiento se ha estabilizado. En consecuencia el reclutamiento constituye una pieza clave en la dinámica poblacional de los organismos bentónicos. En los invertebrados bentónicos este proceso varía desde unos días hasta unas semanas después del asentamiento. Su variación espacial y temporal dependerá de factores oceanográficos y biológicos, tales como la cantidad de larvas producidas o “pool” larvario, del transporte larvario, de los procesos implicados en el asentamiento y de la mortalidad post-

asentamiento (Pineda *et al.*, 2009). Según estos últimos autores los mecanismos implicados en el reclutamiento pueden dividirse en procesos pre-asentamiento (en la columna de agua) y post-asentamiento (en el sustrato).

Posteriormente, ocurre el desarrollo postlarvario caracterizado por la diferenciación y crecimiento de diferentes órganos internos, el crecimiento de la disoconcha y la hendidura bisal, y la formación de la charnela definitiva, dando origen al estadio de juvenil que únicamente se diferencia del adulto por su menor tamaño y por la ausencia todavía de gónada (De la Roche & Velasco, 2008).

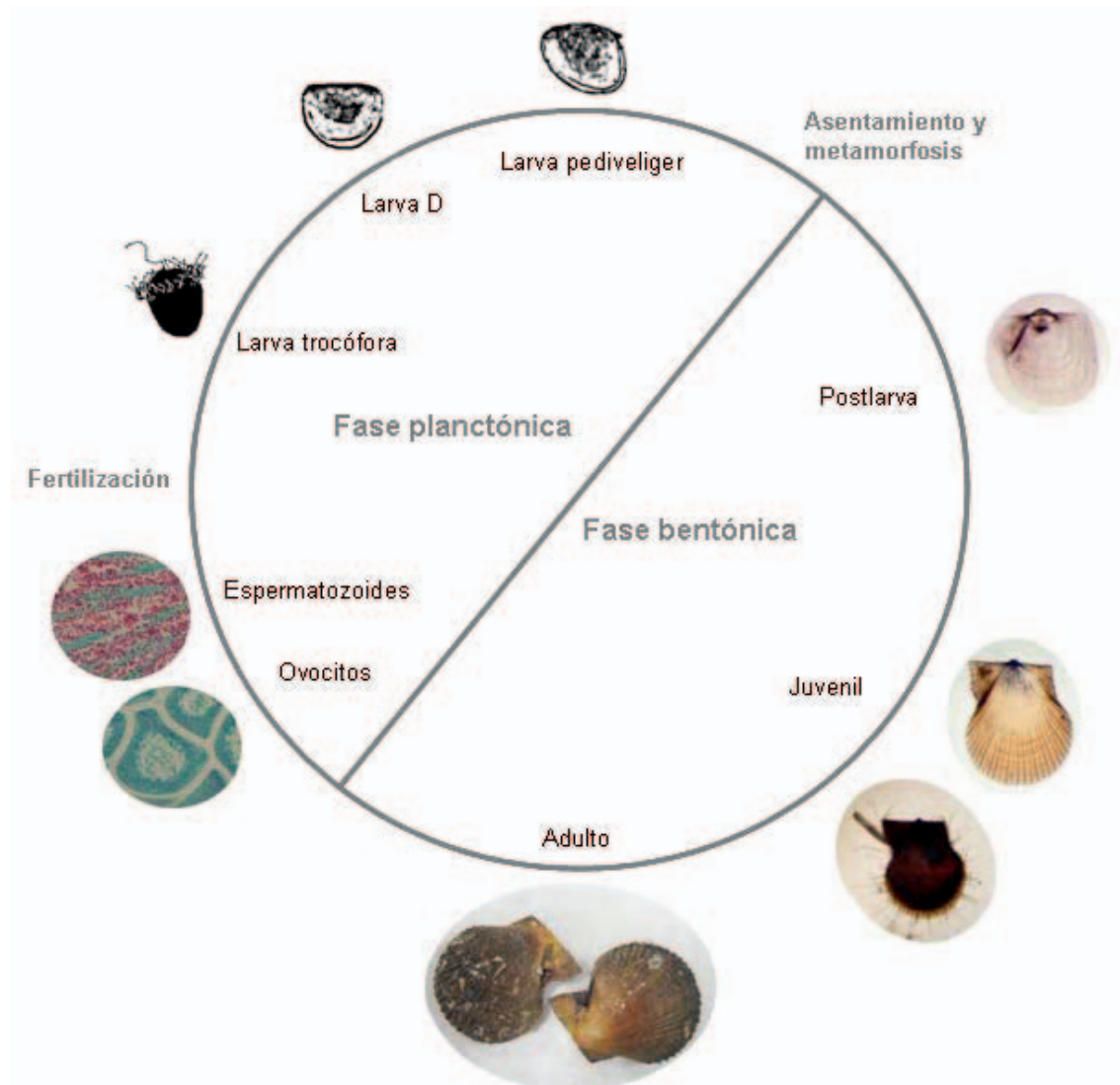


Fig. 6.1. Representación del ciclo de vida en los pectínidos.

Mecanismos que gobiernan el asentamiento y la metamorfosis

Morse (1988) propone que la vía desencadenante del proceso de asentamiento y por consiguiente de la metamorfosis, se activa por la unión de una señal química asociada a superficies con quimiorreceptores especializados, localizados sobre el epitelio de las larvas, produciendo una señal que es transducida por cambios en AMPc, calcio y flujo de iones a través de la membrana quimiosensorial.

La vía amplificadora se activa por componentes específicos de la materia orgánica disuelta en el agua, que actúan a través de un grupo separado de receptores y transductores asociados a membranas, para modificar un componente de la vía desencadenante (Morse, 1988).

Factores que afectan al asentamiento

Uno de los factores que más afectan al reclutamiento lo constituye el número de larvas producidas o tamaño del “pool” larvario, que está determinado por el tamaño y condición de la población adulta, por la periodicidad de las puestas o por el tiempo de residencia de las larvas en la columna de agua (Peteiro, 2010).

Pineda *et al.* (2009) señalan que la intensidad, temporalidad y el lugar de asentamiento dependen de la hidrodinámica local, influenciada a su vez por el viento, las corrientes, las mareas, el afloramiento etc., de las características geográficas y topográficas, así como del comportamiento larvario (migraciones verticales de las larvas).

Existen además otra serie de factores biológicos que también pueden ser determinantes para el asentamiento larvario de los pectínidos. Estos son: la competición por el espacio y el alimento; la diferencia zonal en la mortalidad y predación; el estado fisiológico de las larvas; los blooms de algas tóxicas (Summerson & Peterson, 1990); las características químicas locales (Ito *et al.*, 1975); la presencia de inductores naturales como la asociación con coespecíficos o agregación (Rodríguez *et al.*, 1993) o con biopelículas (Cantillán *et al.*, 2010); las características físicas locales (Ito *et al.*, 1975) como la velocidad del flujo del agua, temperatura, intensidad lumínica, salinidad, KCl, NH₄Cl, el contorno y las características del sustrato de asentamiento, o la periodicidad lunar; la contaminación; o la coincidencia espacial y temporal entre la puesta y la abundancia de alimento disponible (Le Pennec *et al.*, 2003).

Sustrato de asentamiento

Para que se produzca el asentamiento de las larvas de los pectínidos es necesaria la disponibilidad de sustratos adecuados, y éste depende en gran medida de la capacidad que posean de seleccionar un determinado sustrato que sea apto para la supervivencia de las larvas.

Las larvas de los pectínidos en el medio natural suelen preferir sustratos filamentosos epibentónicos (Helm *et al.*, 2006), probablemente seleccionados para alejarse o protegerse del fango presente en los sedimentos que produciría grandes mortalidades y poder así conseguir una mejor posición en la columna de agua que les permita alimentarse de las partículas en suspensión. Pueden fijarse sobre hidrozoos y briozoos (Eggleston, 1962; Pickett & Franklin, 1975; Dare & Bannister, 1987; Harvey *et al.*, 1995), algas pardas (Mason & Drinkwater, 1978; Minchin, 1976, 1978), algas rojas (Naidu, 1970), algas verdes (García-Esquivel & Bricelj, 1993), tubos de poliquetos, túnicas de ascidias, conchas de otros moluscos muertos, o sobre otros sustratos inertes (Helm *et al.*, 2006).

Además, se ha comprobado que la magnitud del asentamiento de larvas de pectínidos es proporcional a la superficie efectiva disponible para la fijación (Ambrose & Irlandi, 1992; Pearce & Bourget, 1996; Acosta *et al.*, 1999; Narvarte & Pascual, 2003; De la Roche *et al.*, 2005). Las larvas pediveliger competentes de los pectínidos tienen un

comportamiento geotáctico positivo y fototrópico negativo (Bayne, 1964a). Esto significa que tienden a situarse por debajo de la termoclina, donde la intensidad lumínica es menor, pero sin alcanzar la oscuridad absoluta.

Por todo ello, se considera fundamental en el estudio del comportamiento reproductor de los pectínidos el conocer tanto las áreas de asentamiento, como los sustratos y las profundidades seleccionados por cada especie.

Captación de semilla de pectínidos mediante colectores artificiales

Se ha comprobado que los pectínidos tienen afinidades específicas por determinados sustratos, dependiendo de las características del material con el que están formados, siendo los materiales sintéticos y filamentosos buenos sustitutos de los materiales de fijación presentes en el medio natural (De la Roche & Velasco, 2008).

La captación de semilla de pectínidos se realiza generalmente empleando colectores artificiales que se fondean en el mar (Fig. 6.2.). El modelo de colector empleado habitualmente para la captación de semilla de pectínidos está formado por un relleno de material filamentosos sobre el que se asientan las larvas, situado dentro de una bolsa de red. La apertura de malla de la bolsa de red debe ser lo suficientemente grande como para permitir el paso del agua, las larvas y el alimento, pero lo suficientemente pequeña para que evite que la semilla se escape de la bolsa, siendo un diámetro de malla adecuado para la captación de los pectínidos de interés comercial en las rías gallegas entre 1,5-2 mm (Román, comunicación personal).

Por todo ello, un buen colector debe ser una superficie susceptible a la fijación de las larvas planctónicas, tanto en el relleno como en la propia bolsa, poseer cierta rigidez y prevenir la pérdida de semillas, además de permitir el paso de un adecuado flujo del agua marina a través de su malla. Otros factores a tener en cuenta a la hora de diseñar un buen colector son su precio, la posibilidad de su reutilización y que se pueda manejar con facilidad (Narvarte, 2001). El relleno más utilizado por su precio y disponibilidad es el monofilamentoso y la bolsa más empleada es la bolsa cebollera (Hardy, 2006).



Fig. 6.2. Modelo de colector artificial para la captación de semilla de pectínidos.

Los colectores se pueden colocar en cabos sencillos individuales suspendidos de una batea o bien en sistemas “long-line” (Fig. 6.3). Se ha demostrado que este último siste-

ma es el más efectivo porque reduce el movimiento de los colectores y, por consiguiente, se pierde menos cantidad de semilla (Buestel *et al.*, 1976).

Las superficies de asentamiento deben estar separadas del fondo y localizarse en zonas con buen flujo de agua y corrientes adecuadas. Aunque las mayores fijaciones de pectínidos se han obtenido en colectores cercanos al fondo (De la Roche *et al.*, 2005), la profundidad preferente para el asentamiento larvario depende de cada especie.

En la parte superior de cada línea se coloca una boya que soporte el peso de la línea tras cierto tiempo en el mar, dándole flotabilidad y facilitando su localización, y en la parte inferior un muerto para mantener la posición de la línea (Fig. 6.3.).

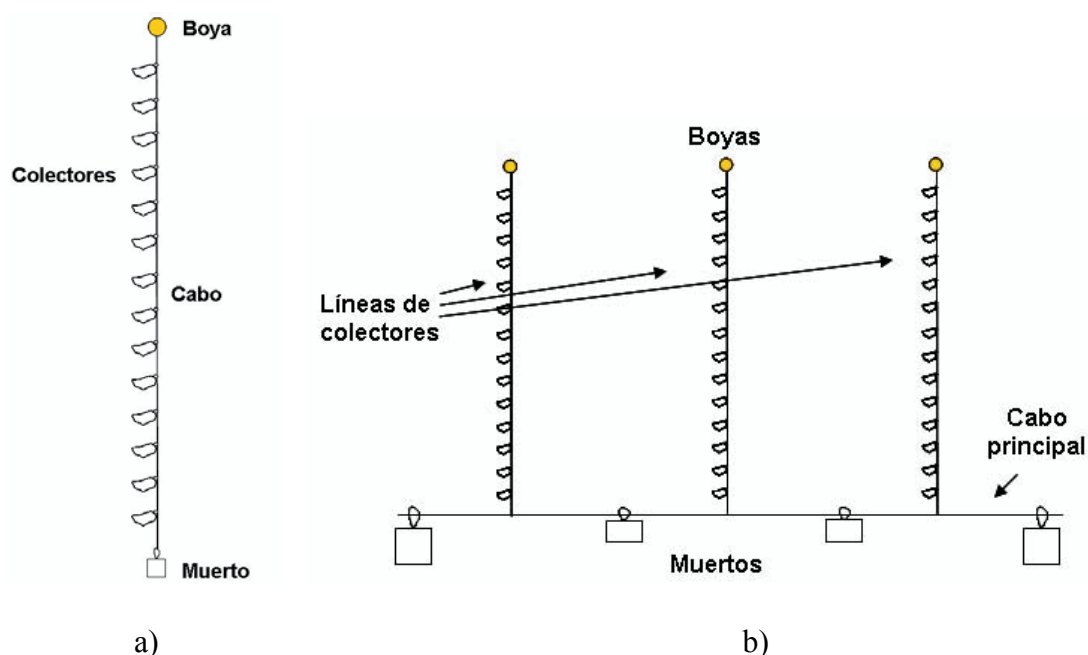


Fig. 6.3. Esquema de una línea de colectores a) y de un sistema “long-line” b).

Según la zona de fondeo de los colectores y la época del año en que se lleve a cabo, es frecuente que las proporciones de las especies captadas y su abundancia varíen. Por este motivo numerosos estudios se dirigen inicialmente a establecer la localización del lugar más adecuado y el momento óptimo para la colocación de los colectores de pectínidos en el mar (Brand *et al.*, 1980; Perodou & Latrouite, 1980; Román *et al.*, 1996; Peña *et al.*, 1996; Maguire & Burnell, 1999).

Las cuerdas colectoras suelen colocarse en el mar un poco antes del comienzo de la temporada de asentamiento para “acondicionarlas”. Este acondicionamiento consiste en la eliminación de las sustancias solubles que inhiben el asentamiento y en la formación de una fina capa de material orgánico, en la que termina por desarrollarse una compleja comunidad microbiana, que emite señales químicas al medio capaces de estimular el asentamiento de los diferentes pectínidos (Parsons *et al.*, 1993; Pearce & Bourget, 1996; Avendaño-Herrera *et al.* 2002; Cantillán *et al.*, 2010). En general, la densidad del asentamiento se incrementa con la edad del biofilm formado, pero en algunas especies existe un óptimo a partir del cual desciende el asentamiento (Rahim *et al.*, 2004).

La duración del periodo de inmersión o tiempo de permanencia de los colectores en el mar está determinada por el tamaño de la semilla y la presencia de depredadores. Cuando ésta alcanza una talla adecuada para su manipulación, se deben extraer los colectores realizándose entonces el proceso de “despegue”. Este proceso es determinante y muy delicado, ya que la supervivencia está fuertemente afectada por el período de tiempo durante el cual la semilla permanece en seco y de la temperatura del aire (Buestel *et al.*, 1979). Para llevar a cabo el proceso de despegue, se izan las líneas de colectores, se retira el relleno y se agita sobre recipientes con agua de mar, con el fin de retirar toda la semilla captada. Posteriormente se deben eliminar los predadores, el fouling y demás fauna y flora acompañante.

En ocasiones en los colectores también se asientan otras especies no deseadas que interfieren en el desarrollo normal de los pectínidos, por lo que pueden darse procesos de depredación o competición por el alimento y el espacio, con lo que disminuye el número de ejemplares y su tasa de crecimiento.

El “fouling” está constituido por especies sésiles no necesariamente predadoras que sin embargo reducen considerablemente la superficie de asentamiento disponible para la semilla de los pectínidos. Limitan también el flujo de agua que atraviesa la bolsa colectora, reduciendo la disponibilidad de alimento. Además, muchas de estas especies son filtradoras, con lo que puede darse adicionalmente competencia por el alimento. Como resultado, se produce un descenso de la supervivencia de la semilla de los pectínidos por asfixia o bien por competición (Román, 1991). Habitualmente el fouling está formado por ascidias (Minchin, 1983; Hardy, 2006), hidroides, crinoideos o esponjas (Lucas, 1965), poliquetos tubícolas (Chauvaud *et al.*, 1996), otros bivalvos (Lucas, 1965; Román *et al.*, 1985) o gasterópodos (Thouzeau, 1991a).

La presencia de predadores en el interior de los colectores, suele estar asociada a una menor abundancia de semillas de pectínidos y a la existencia de numerosas valvas vacías o rotas. En el Atlántico europeo, los mayores predadores de la semilla de pectínidos son los crustáceos y las estrellas de mar. Los crustáceos braquiuros predadores de los pectínidos son fundamentalmente *Carcinus maenas* (Minchin, 1976; Ventilla, 1976; Maguire & Burnell, 1999), *Cancer pagurus* (McKay, 1976; Perodou & Latrouite, 1980; Maguire & Burnell, 1999), *Macropipus depurator*, *M. arcuatus*, *Nécora puber* (Minchin, 1976; Ventilla, 1976; Perodou & Latrouite, 1980; Maguire & Burnell, 1999; Louro *et al.*, 2005b; Iglesias *et al.*, 2010) y *Atelecyclus undecimlineatus* (Louro *et al.*, 2005b). También es común que aparezcan *Liocarcinus arcuatus* (Thouzeau, 1991a; Louro *et al.*, 2005b), *Pilumnus hirtellus* (Thouzeau, 1991a) y *Liocarcinus depurator* (Iglesias *et al.*, 2010). Lucas (1965); Minchin (1976); Buestel & Dao (1979); Perodou & Latrouite (1980); Maguire & Burnell (1999); Louro *et al.*, 2005b e Iglesias *et al.* (2010) encuentran fijadas en los colectores las estrellas de mar *Asteria rubens* y *Marthasterias glacialis*. Además, pueden aparecer otras especies como el gasterópodo perforador *Philbertia linearis* (Thouzeau, 1991a) o el erizo *Psamechinus miliaris*, predador potencial de pectínidos (Iglesias *et al.*, 2010).

Separación por tamaños

Después de retirar la semilla de los pectínidos de los colectores, ésta debe separarse por rangos de tamaño, empleando tamices manuales o bien clasificadoras mecánicas (Helm *et al.*, 2006). El primero de los métodos consiste en colocar la semilla sobre un tamiz de

tamaño ligeramente inferior al de la semilla de mayor talla, agitarlo a continuación sobre un recipiente con agua de mar, seleccionar los animales retenidos en recipientes con agua marina y repetir el proceso con la siguiente semilla de menor tamaño, usando para ello un tamiz de malla algo menor (De la Roche & Velasco, 2008).

Antecedentes sobre captación de pectínidos

Los primeros intentos de captación de semilla de pectínidos se realizaron en Japón en el año 1935, utilizando como colector pequeñas ramas de cedro entrelazadas con una malla de cordeles de paja de arroz (Ventilla, 1982). Este primer método tuvo ya tanto éxito que llegó incluso a aplicarse industrialmente. Posteriormente, se encerraron las ramas de cedro en el interior de una bolsa japonesa de cebollas, permitiendo la entrada de las semillas y reteniéndolas en el interior, tras desprenderse después de la época de fijación (Ventilla, 1982). Este segundo método permitió aumentar considerablemente el número de semillas captadas.

Esta técnica de captación fue mejorada substancialmente en los años 60, al sustituir los materiales naturales utilizados hasta ese momento por redes de monofilamento sintético y suspendiendo además los colectores en sistemas “long-line”. En los años 70 se emplearon predominantemente materiales como el monofilamento y las hojas de polietileno, materiales artificiales que captan menos semilla, pero en los que el crecimiento es más rápido al presentar menor hacinamiento de ejemplares (Buestel *et al.*, 1976).

Se han realizado diversos estudios sobre las características de los colectores empleados, tales como el tipo de material, el diámetro de malla, el color, la rigidez o las dimensiones de los mismos. Se ha trabajado sobre la eficacia de algunos materiales artificiales utilizados para elaborar los colectores como las bolsas cebolleras (Román, 1991; Peña *et al.*, 1994; Peña *et al.*, 1996; Cano *et al.*, 1999), el netlon (monofilamento de nylon) (Pickett, 1977; Brand *et al.*, 1980) o el polipropileno (Lodeiros, 1999).

Actualmente el empleo de colectores artificiales es una técnica habitual de captación de semilla de pectínidos en muchos países como China (Guo & Luo, 2006), Japón (Ventilla, 1982), Chile y Perú (Narvarte *et al.*, 2002) o Irlanda y Escocia (Mason, 1983; Hardy, 1991). Para poder desarrollar un buen programa de captación de semilla con colectores se considera fundamental un adecuado conocimiento previo del ciclo reproductor de las especies de interés, ya que las irregularidades en el reclutamiento caracterizan a muchos moluscos bivalvos marinos y especialmente a los pectínidos (Baird, 1966).

En España la captación de pectínidos ha sido ampliamente estudiada en las costas de Málaga, Galicia, Cataluña y Castellón (Román *et al.*, 1985, 1987, 1996, 2001, 2008, 2011; Román, 1991, 2007; Román & Cano, 1987; Cano *et al.*, 1988, 1999; Ramonell *et al.*, 1990; Peña & Canales, 1993; Ramonell & Malvar, 1993b; Peña *et al.*, 1994, 1995, 1996, 2002; Acosta *et al.*, 1999; Campos *et al.*, 1999; Cano & Campos, 2003; Peña, 2005; Iglesias *et al.*, 2007a, 2007b, 2008a, 2008b, 2009, 2010). Los resultados obtenidos en muchos de los estudios han sido muy positivos bajo el punto de vista de la investigación aplicada, pero sin embargo no se han traducido posteriormente en el inicio del cultivo a una escala o nivel comercial. Las rías gallegas son zonas potencialmente muy viables para llevar a cabo este proceso a escala industrial y entre las causas posibles que no lo han permitido se pueden citar: la falta de interés mostrada por los productores lo-

cales (Román, 1991), la irregularidad en el reclutamiento de estas especies, tanto en las fechas como en la intensidad de asentamiento, el elevado coste de los materiales que son producidos en el extranjero, la alta concentración de trabajo en períodos de tiempo reducidos, la competencia en el mercado de los pectínidos producidos en otros países con precios muy reducidos frente a los productos locales que deben superar rigurosos controles sanitarios, la gran abundancia de especies predadoras en algunas zonas de producción o las restricciones administrativas para las concesiones (Román *et al.*, 2011).

En base a los estudios reproductivos realizados con los pectínidos en Galicia, se asume que las oscilaciones estacionales en el índice de condición gonadal reflejan el grado de llenado o vaciado de la gónada y en consecuencia este índice puede ser utilizado para conocer las épocas de puesta. Siguiendo ésta técnica, se ha observado por ejemplo que, la volandeira (*Aequipecten opercularis*) muestra una gametogénesis invernal, con varios picos de puesta, registrándose máximos siempre en marzo, mayo y junio, y dependiendo de los años en agosto o julio-agosto y septiembre (Román *et al.*, 2008). La zamburiña (*Chlamys varia*), según la información descrita en el Capítulo 3, inicia el llenado de la gónada a finales de invierno-principios de primavera y muestra un periodo de puestas extenso que abarca desde el mes de mayo hasta el mes de octubre con puesta principal en primavera-verano y una puesta menor en verano-otoño.

Este conocimiento del ciclo reproductor de las especies de pectínidos presentes en las rías gallegas es sumamente importante, ya que uno de los objetivos de los estudios de reproducción consiste precisamente en optimizar la captación de semilla fondeando los colectores en la época en la que tiene lugar el desove de la especie estudiada.

La pauta de asentamiento de los pectínidos registrada en Galicia es variable, tanto en fechas como en intensidad de asentamiento (Ramonell *et al.*, 1990; Román *et al.*, 1996, 2008), lo que complica los procesos de colocación de colectores, ya que no permite predecir con precisión ni la fecha ni la abundancia de semillas que se va a asentar (Román *et al.*, 2011). Sin embargo, a diferencia de los resultados en otros países, se ha observado que los colectores captan semilla durante períodos mucho más dilatados de tiempo, por lo que fijaciones moderadas que tengan lugar de forma sucesiva suelen resultar en captaciones finales más elevadas de lo previsto (Román *et al.*, 2008). En nuestras costas pueden observarse variaciones positivas en el número de semilla presente en los colectores, y diferenciarse si estas son debidas a una misma cohorte, (si el reclutamiento de ésta es muy prolongado), o al asentamiento de nuevas cohortes.

La captación de semilla de pectínidos debe realizarse en zonas resguardadas o áreas costeras con poco intercambio de agua con mar abierto, donde la pérdida de larvas por arrastre de las corrientes sea mínima (Burnell, 1983; Cano *et al.*, 1988). Además, el rendimiento de los colectores es mejor si se ubican en las cercanías de un banco natural, por lo que es conveniente conocer previamente los puertos donde se producen capturas abundantes de estas especies, para hacer un seguimiento posterior de la pesquería y delimitar las zonas de captura. Aun así, Román (1991) señala que se pueden producir grandes variaciones en la densidad de semilla captada, dependiendo del lugar exacto de fondeo de los colectores. También Ramonell *et al.* (1990) observaron en la Ría de Pontevedra que en distintas zonas de la ría, pueden observarse diferentes pautas de fijación. Román (2007) explica este hecho señalando que puede ocurrir que el asentamiento en una determinada ría dependa de varias poblaciones con épocas de cría diferentes, con lo

cual podría no obtenerse una relación clara entre los desoves previamente estudiados y el posterior asentamiento de los pectínidos.

Se ha demostrado que la profundidad a la que se suspenden los colectores en el mar es un factor muy importante en la intensidad de fijación de los pectínidos y depende de las características locales (Narvarte *et al.*, 2002). El descenso de captación que habitualmente se observa en las proximidades del fondo puede deberse a que el fango obstruye la malla de los colectores y produzca la asfixia de la semilla. Por otra parte, la reducción cerca de la superficie se debe principalmente al geo- y fototropismo que presentan estos moluscos. Román *et al.* (2008) recomiendan utilizar profundidades mínimas de 20 metros para la ubicación de los colectores por dos motivos. Por un lado, por el geo- y fototropismo que presentan los pectínidos, que les hace seleccionar para fijarse zonas a cierta profundidad, y por otro para evitar la fijación superficial de la semilla de mejillón, extremadamente abundante en la costa gallega.

La influencia de otros invertebrados presentes en los colectores es otro de los factores importantes en la captación de pectínidos en Galicia. Román *et al.* (1985) y Román (1991) indican la presencia de competidores como uno de los inconvenientes para el desarrollo del cultivo de pectínidos en nuestro país. Por este motivo, para optimizar la captación de semilla de pectínidos, se deben evitar los asentamientos de las principales especies competidoras. Además, la depredación puede reducir el crecimiento o producir grandes mortalidades en la semilla captada.

Situación actual

Para proceder al cultivo de moluscos es necesario disponer de semilla, que generalmente se obtiene en criadero o “hatchery”, pero en el caso de algunas especies (pectínidos, ostréidos, mitílidos) puede obtenerse por medio de colectores. La producción de semilla de volandeira en criadero todavía no es factible, por lo que por el momento sólo puede obtenerse mediante el empleo de colectores (Román *et al.*, 2008). Aunque sí se han obtenido desoves en hatchery de zamburiña, en Galicia aún no se han podido desarrollar las técnicas adecuadas para obtener semilla de pectínidos en hatchery en grandes cantidades, que puedan abastecer una industria dedicada a la pectinicultura. Este estudio de captación se planteó siguiendo las recomendaciones de Román *et al.* (2008), que describen la posibilidad de cultivo de pectínidos en Galicia a partir de semillas asentadas en colectores.

Observando los colectores fondeados en las Rías Bajas para la obtención de vieira y volandeira, Ramonell *et al.* (1990), encuentran zamburiña de forma casual. En general su presencia no se encuentra bien documentada, debido a su confusión inicial con la especie *Hinnites distorta*, muy semejante sobre todo en sus formas juveniles (Ramonell *et al.*, 1990; Wagner, 1991). Precisamente el siguiente capítulo de esta memoria trata de las diferencias entre ambas especies en animales de tallas comprendidas entre 0,4 y 13 mm.

Debido por un lado a la dificultad para obtener semilla de zamburiña en las Rías Bajas por medio de colectores y por otro a que se pretendía evaluar su potencial económico como especie cultivable, una gran parte de los trabajos realizados en Galicia con la zamburiña se centraron en el pasado en la posibilidad de obtención de semilla en hatchery (Louro *et al.*, 2003; De la Roche *et al.*, 2005). Sin embargo, en el año 2006 se

notificó por primera vez gran cantidad de semilla de *C. varia* pegada en las cuerdas de cultivo de mejillón de la Zona II de la Ría de Ares-Betanzos (Iglesias *et al.*, 2007a). Al ser ésta la única ría de Galicia en la que se registró una fijación abundante y documentada de zamburiña, se consideró que sería un lugar adecuado para iniciar experiencias de captación de semilla por medio de colectores.

Este capítulo describe los resultados de las campañas de colocación de colectores para la obtención de semilla de volandeira (*Aequipecten opercularis*) en Aldán, Ría de Pontevedra y zamburiña (*Chlamys varia*) en la Ría de Ares-Betanzos, durante los años 2007-2009.

6.2 Material y métodos

Para la realización de este estudio se llevaron a cabo dos campañas de captación de semilla de pectínidos mediante colectores en las rías gallegas. La primera de ellas durante los años 2007-2008 en Aldán (Ría de Pontevedra) y la segunda en la Zona II de la Ría de Ares-Betanzos durante los años 2007-2009.

6.2.1 Montaje de colectores

Todos los colectores se fabricaron con bolsas cebolleras de dimensiones 37 x 54 cm con una malla de 1,2 mm y se rellenaron con un trozo de red de polipropileno de 70 x 80 cm.

En Aldán, las bolsas colectoras fueron colocadas en sistemas long-line con un diseño similar al descrito por Thouzeau (1991a) y Narvarte (2001) y se dispusieron a una profundidad de 21 m (Fig. 6.4.).

En el año 2007, cada long-line portaba 4 líneas de colectores, compuestas de 20 bolsas atadas por pares a una cuerda, con una separación de 50 cm entre cada par. El par de bolsas más profundo se encontraba 1 metro por encima del lecho marino. Boyas de 24 cm de diámetro, atadas a los extremos libres de cada línea de colectores, mantuvieron erguida la estructura entre dos aguas (Fig. 6.5.).

En el año 2008 cada long-line tenía 5 líneas de colectores, cada una de ellas con 42 bolsas de colectores agrupados en grupos de 3 y espaciados 15 cm entre sí (Fig. 6.6.).

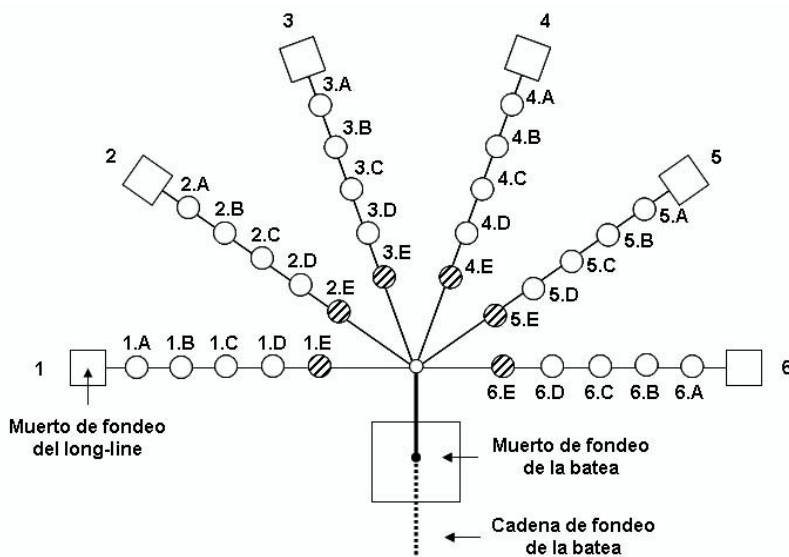


Fig. 6.4. Sistema long-line empleado para captación de semilla de pectínidos en Aldán. La numeración 1.A-6.E corresponde a cada línea de colectores empleada. Las líneas de colectores 1.E-6.E que aparecen sombreadas fueron únicamente empleadas en 2008.

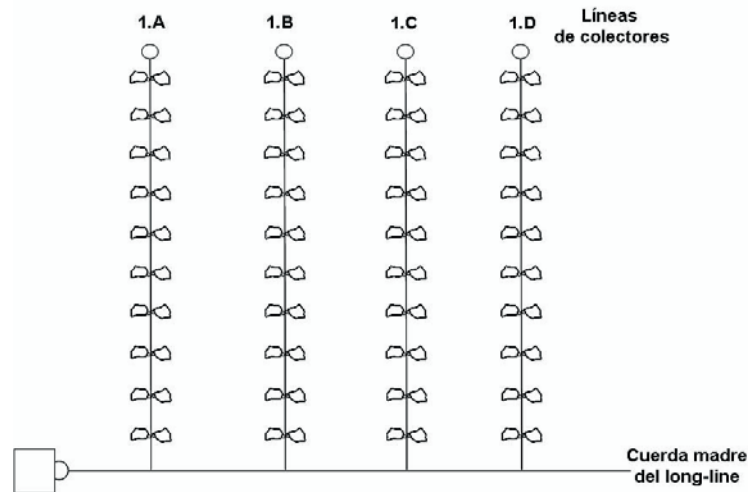


Fig. 6.5. Líneas de colectores empleadas para la captación de semilla en Aldán durante el año 2007.

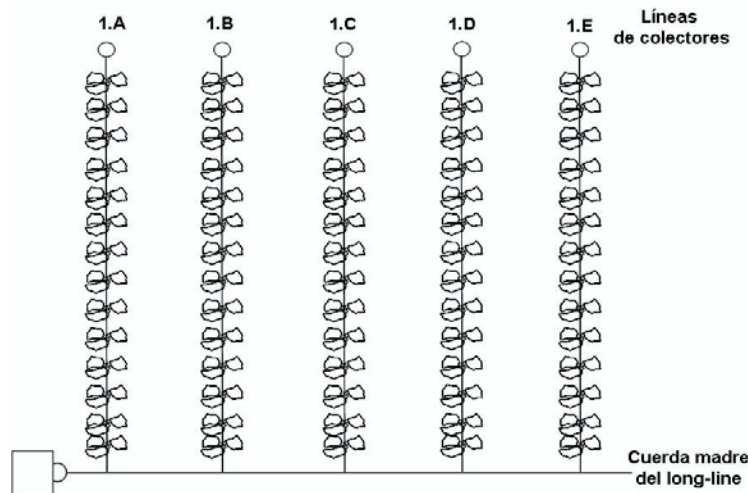


Fig. 6.6. Líneas de colectores empleadas para la captación de semilla en Aldán durante el año 2008.

En la Ría de Ares-Betanzos las bolsas colectoras fueron colocadas en cabos sencillos individuales de 15 m suspendidos de una batea, situadas a 1,5 m del fondo las más profundas y a 3 m las más someras. Cada línea de colectores portaba 30 bolsas colectoras agrupadas en grupos de 3 y espaciadas 15 cm entre sí (Fig. 6.7.). Se colocaron 3 líneas de colectores en cada fecha de fondeo.

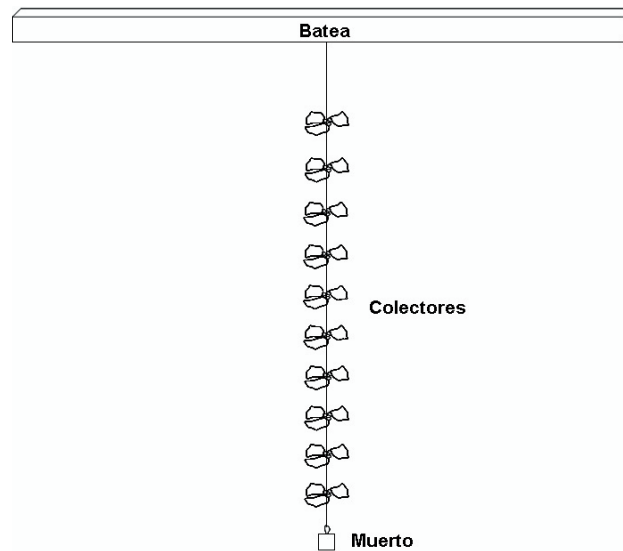


Fig. 6.7. Esquema de las líneas de colectores empleadas para la captación de semilla en la Ría de Ares-Betanzos.

6.2.2 Fondeo de colectores

En base a los estudios reproductivos realizados con *Aequipecten opercularis* en Galicia (Román *et al.*, 2008), los colectores fueron colocados desde mediados de primavera hasta principios de verano de 2007 y 2008 en Aldán (Ría de Pontevedra), del 15 de mayo al 23 de julio de 2007 y del 6 de mayo al 15 de julio del 2008. Cada 2 semanas, durante 12 semanas, se colocó un long-line a una profundidad de 21 m, obteniendo un total de 6 long-lines dispuestos cada año en esta ría.

Las fechas de fondeo de colectores en la Ría de Ares-Betanzos se basaron inicialmente (durante el año 2007), en las variaciones del índice gonadal de zamburiñas mantenidas en suspensión en una batea situada en la zona (Capítulo 3; Fig. 6.8). Uno de los objetivos del estudio del ciclo reproductor de la zamburiña es precisamente optimizar la captación de semilla fondeando los colectores en la época en la que tiene lugar el desove. Según la información descrita en capítulos anteriores, el período de cría de la zamburiña en la Ría de Ares-Betanzos tiene un pico principal entre finales de abril y julio, con una pequeña actividad en septiembre.

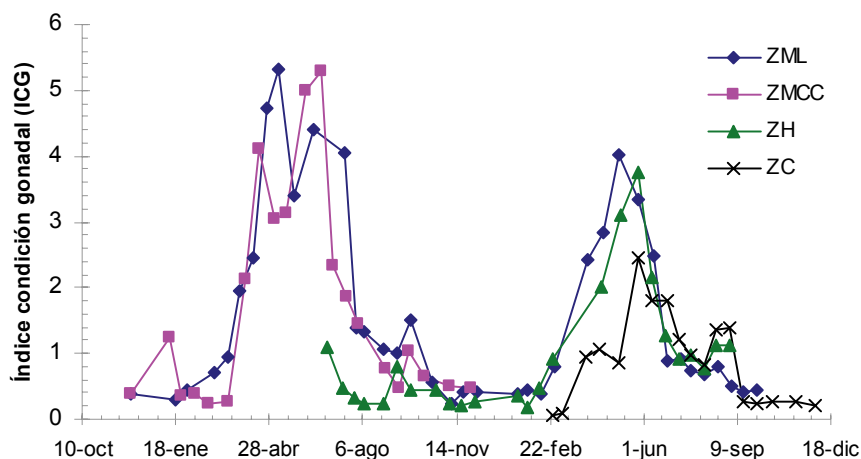


Fig. 6.8. Evolución del índice de condición de la gónada de *C. varia* en los años 2007 y 2008. Para su determinación se utilizaron zamburiñas de distintas edades y orígenes (ver Cap. 3). ZML: Zamburiña cultivada en la Ría de Ares-Betanzos, ZMCC: Zamburiña cultivada en la Ría de Arosa, ZH: Zamburiña producida en hatchery, ZC: Zamburiña captada mediante colectores.

Se fondearon líneas de colectores en 7 ocasiones, empezando el 18 de mayo y finalizando el 19 de septiembre de 2007, cuando el período de puesta estaba finalizando. En cada fecha de fondeo se colocaron 3 líneas de colectores.

Las fechas de fondeo en los años posteriores fueron determinadas en parte por los resultados de los años previos. Se pretendió delimitar más ajustadamente la fecha final de captación, ya que los colectores fondeados al final de la temporada de cría eran los que mayor índice de recuperación de semilla (relación entre la fijación inicial y el número de semilla al despegue) mostraban. Se fondearon colectores aproximadamente cada dos semanas en 12 ocasiones, empezando el 29 de abril y acabando el 29 de septiembre.

Durante los trabajos realizados en 2007 y 2008 se constató que los colectores fondeados antes de julio eran colonizados por la estrella de mar *Asterias rubens*, y mostraban un rendimiento prácticamente nulo. Por todo ello, en 2009 se redujo el período de fondeo de colectores. Se fondearon colectores cada dos semanas en 8 ocasiones, desde el 26 de junio hasta el 25 de septiembre.

6.2.3 Control periódico y despegue de la semilla

En Aldán fueron muestreadas 3 bolsas de colectores de cada serie: 4, 8 y 12 semanas después de la colocación (M1-M3) y se procedió al despegue al cabo de aproximadamente 4 meses (Tablas 6.1. y 6.2.).

Nº fondeo	Fecha fondeo	Muestreo M1	Muestreo M2	Muestreo M3	Despegue
F1	15 may.	12 jun. (28)	10 jul. (56)	7 ag. (84)	4 sep. (112)
F2	29 may.	26 jun. (28)	23 jul. (55)	21 ag. (84)	18 sep. (112)
F3	12 jun.	10 jul. (28)	7 ag. (56)	4 sep. (84)	2 oct. (112)
F4	26 jun.	23 jul. (27)	21 ag. (56)	18 sep. (84)	16 oct. (112)
F5	10 jul.	7 ag. (28)	4 sep. (56)	2 oct. (84)	30 oct. (112)
F6	23 jul.	21 ag. (29)	18 sep. (57)	16 oct. (85)	13 nov. (112)

Tabla 6.1. Fechas de fondeo, muestreo y despegue de colectores en Aldán (Ría de Pontevedra) durante el año 2007. Entre paréntesis se muestra la edad de los colectores (días).

Nº fondeo	Fecha fondeo	M1	M2	M3	Despegue
F1	6 may.	3 jun. (28)	1 jul. (56)	29 jul. (84)	28 ag. (114)
F2	20 may.	17 jun. (28)	14 jul. (55)	12 ag. (84)	25 sep. (128)
F3	3 jun.	1 jul. (28)	29 ag. (87)	25 sep. (114)	8 oct. (127)
F4	16 jun.	14 jul. (28)	12 ag. (57)	-----	23 oct. (129)
F5	1 jul.	29 jul. (28)	-----	25 sep. (86)	6 nov. (128)
F6	15 jul.	12 ag. (28)	-----	-----	19 nov. (127)

Tabla 6.2. Fechas de fondeo, muestreo y despegue de colectores en Aldán (Ría de Pontevedra) durante el año 2008. Entre paréntesis se muestra la edad de los colectores (días). Este año algunos colectores no se pudieron recuperar en las fechas programadas (F4, muestreo 3; F5, muestreo 2; F6, muestreos 2 y 3).

En la Ría de Ares-Betanzos durante el año 2007 se realizaron muestreos de 3 colectores de las cinco primeras series fondeadas (F1 a F5) al cabo de aproximadamente 40 días, para seguir la pauta de fijación. En el caso de las series F6 y F7, fondeadas al final del verano, no se realizó el muestreo al cabo de 40 días, únicamente se procedió al despegue al cabo de aproximadamente 5 meses (Tabla 6.3.). Cada muestreo consistió en izar una de las 3 cuerdas de colectores fondeadas en cada fecha, de la cual se retiraron al azar 3 bolsas colectoras.

Nº fondeo	Fecha fondeo	Muestreo	Despegue
F1	18 may.	28 jun. (41)	8 oct. (143)
F2	7 jun.	16 jul. (39)	15 oct. (130)
F3	28 jun.	7 ag. (40)	12 nov. (137)
F4	20 jul.	28 ag. (39)	20 nov. (123)
F5	7 ag.	19 sep. (43)	27 nov. (112)
F6	28 ag.		31 ene. 08 (156)
F7	19 sep.		12 feb. 08 (146)

Tabla 6.3. Fechas de fondeo, muestreo y despegue de colectores en la Ría de Ares-Betanzos durante el año 2007. Entre paréntesis se muestra la edad de los colectores (días).

Durante el año 2008 todos los colectores se muestrearon al cabo de 4-8 semanas, para determinar la pauta de fijación. 18-28 semanas después de fondeados se izaron los colectores y se determinó la producción y tasa de recuperación en función de la fecha de fondeo y asentamiento inicial (Tabla 6.4.). Por problemas asociados al lugar de fondeo (batea comercial en explotación), de las 12 líneas de colectores fondeadas a lo largo del año, la serie F7 se perdió al cabo de un mes y las series F4 y F12 en el momento del despegue.

Los objetivos específicos de este año fueron confirmar las pautas de mortalidad registradas en los colectores fondeados en primavera y principios de verano y la estacionali-

dad del asentamiento registradas el año previo, a la vez que delimitar el período de reclutamiento ampliando las fechas de fondeo de los colectores.

Nº fondeo	Fecha fondeo	Muestreo	Despegue
F1	29 abr.	27 may. (28)	13 nov. (198)
F2	13 may.	10 jun. (28)	18 nov. (189)
F3	27 may.	23 jun. (27)	27 nov. (184)
F4	10 jun.	9 jul. (29)	perdido
F5	25 jun.	21 jul. (26)	3 dic. (161)
F6	9 jul.	1 sep. (54)	13 ene. 09 (188)
F7	21 jul.	perdido	
F8	4 ag.	29 sep. (56)	12 ene. 09 (161)
F9	18 ag.	15 sep. (28)	28 ene. 09 (163)
F10	1 sep.	29 sep. (28)	12 feb. 09 (164)
F11	15 sep.	13 oct. (28)	03 mar. 09 (169)
F12	29 sep.	27 nov. (59)	perdido

Tabla 6.4. Fechas de fondeo, muestreo y despegue de colectores en la Ría de Ares-Betanzos durante el año 2008. Entre paréntesis se muestra la edad de los colectores (días).

Durante el año 2009 se realizó un muestreo al cabo de 8-9 semanas (excepto el primer fondeo, que se muestreó a las 5 semanas) para determinar la pauta e intensidad de fijación, y un muestreo final al cabo de 20-23 semanas para determinar el rendimiento de los colectores y la tasa de recuperación (Tabla 6.5.).

Nº fondeo	Fecha fondeo	Muestreo	Despegue
F1	26 jun.	30 jul. (34)	24 nov. (151)
F2	03 jul.	03 sep. (62)	25 nov. (145)
F3	17 jul.	11 sep. (56)	04 dic. (140)
F4	31 jul.	01 oct. (62)	12 ene. (165)
F5	14 ag.	14 oct. (61)	21 ene. (160)
F6	28 ag.	26 oct. (59)	02 feb. (158)
F7	11 sep.	17 nov. (67)	19 feb. (161)
F8	25 sep.	26 nov. (62)	19 feb. (147)

Tabla 6.5. Fechas de fondeo, muestreo y despegue de colectores en la Ría de Ares-Betanzos durante el año 2009. Entre paréntesis se muestra la edad de los colectores (días).

En los muestreos, tras su recuperación, se introdujo cada colector en un recipiente plástico de 6 litros de agua con 100 ml de formaldehído al 4 % cerrado herméticamente. Una vez en el laboratorio y evitando que transcurriesen más de 24 h, se vaciaron los colectores sobre amplias bandejas, se tamizaron utilizando tamices de 250 μ m de diámetro de malla y se introdujo su contenido en botes plásticos, conservando las muestras en etanol al 70 % hasta su análisis. Posteriormente se analizaron las muestras fijadas en los colectores con ayuda de un estereomicroscopio, seleccionándose toda la semilla de pectínidos presente, que posteriormente se separaba por especies, procediendo a su recuento y medida. Además, se procedió también a seleccionar y eliminar cualquier especie presente en los colectores que se pudiese considerar como predador potencial, es decir, las estrellas de mar *Asterias rubens* y *Marthasterias glacialis*, el erizo *Psammechinus miliaris* y los crustáceos decápodos *Liocarcinus spp*, *Necora puber*, *Pilumnus hirtellus* y *Cancer pagurus* (Fig. 6.9.).



Fig. 6.9. Predadores potenciales 1. *Asterias rubens* 2. *Psammechinus miliaris* 3. *Necora puber* 4. *Pilumnus hirtellus* 5. *Cancer pagurus*.

El despegue es la operación mediante la que se obtiene la semilla que se empleará para el cultivo. Para ello, se levantan las líneas de colectores y se vacían las bolsas colectoras. En la fecha de despegue se recogieron todos los colectores y se separaron todas las semillas captadas. Si se observaba gran variabilidad en las tallas de la semilla fijada en los colectores, se procedía a la clasificación de las semillas por rangos de talla empleando para ello tamices (clasificadoras manuales) de diferentes diámetros de malla (10, 15, 20 mm) sumergidos en grandes recipientes con agua de mar (Fig. 6.10.).

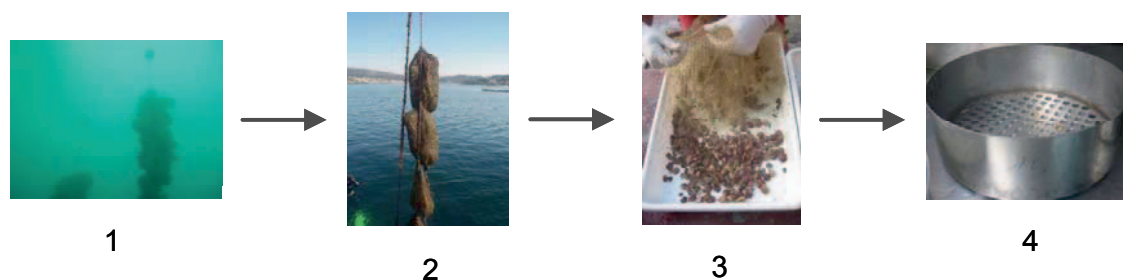


Fig. 6.10. Despegue de colectores 1. Visión submarina de los colectores fondeados 2. Extracción de los colectores 3. Separación de la semilla captada 4. Tamizado.

En el momento del despegue se estimó la producción de semilla de cada línea de colectores (rendimiento medio por serie). Para estimar este rendimiento, se contó el número de semilla presente en 10 bolsas seleccionadas al azar de cada serie de colectores.

Durante todo el proceso de despegue se tuvo especial cuidado en que el periodo de emersión de la semilla fuese lo menos prolongado posible, tanto si el tiempo era lluvioso, ya que el contacto con el agua dulce afecta a la supervivencia de la semilla, como en épocas de temperatura elevada.

6.2.4 Tratamiento de los datos

Se utilizó la abundancia media de semillas por colector y la distribución de frecuencias de talla de la semilla para identificar cohortes sucesivas y para determinar las tasas de crecimiento y supervivencia. Las cohortes se identificaron siguiendo el método descrito por Bhattacharya (1967). También se comparó la abundancia de semilla en los colectores en muestreos sucesivos mediante el análisis de varianza de un factor (ANOVA). Previamente, se comprobó la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad con el test de Bartlett.

Los objetivos principales de este estudio son:

- Valorar el uso de colectores como una fuente de obtención de semilla de pectínidos en las rías gallegas para el posible desarrollo de una industria sostenible de producción comercial de pectínidos.
- Validar las zonas de estudio como aptas para la captación de estos moluscos.
- Describir el patrón de asentamiento y el crecimiento de las postlarvas.
- Estudiar el efecto de los predadores sobre la supervivencia de la semilla.
- Determinar el período de tiempo en el que los colectores son efectivos para capturar la semilla de estos moluscos.

6.3 Resultados

Aequipecten opercularis fue el pectínido más abundante en los colectores fondeados en Aldán, aunque también se recogieron otras especies como *Pecten maximus*, *Chlamys varia* e *Hinnites distorta*, pero siempre en pequeña cantidad, por lo que no serán considerados en esta memoria. Sin embargo en la Ría de Ares-Betanzos la especie más abundante fue *C. varia*, apareciendo esporádicamente ejemplares de *P. maximus*, *A. opercularis* e *H. distorta*.

En cuanto al resto de los bivalvos presentes en los colectores, en el caso de la Ría de Ares-Betanzos, posiblemente debido al hecho de estar situados en una batea dedicada al cultivo comercial del mejillón, todos los años los colectores mostraron un gran número de semilla de esta especie, que pese a su dominancia en número y biomasa no fueron cuantificadas, ya que nuestro único interés era determinar la pauta de asentamiento de la semilla de pectínidos y su posterior destino. Por otro lado, también fue habitual la pérdida de líneas de colectores, que se enredaban en las cuerdas de cultivo de mejillón, debido a que los colectores se fondearon en una batea comercial en la cual se desarrollaban las tareas normales de cultivo de esta especie. Si bien supuso una complicación en la obtención de información, este problema no se pudo evitar.

6.3.1 Asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra

6.3.1.1 Patrones de asentamiento y efectividad de los colectores

Después de un mes de inmersión, se registraron diferencias en el número de semillas por bolsa según el año y la fecha de fondeo de los colectores. Las tasas más altas de asentamiento se produjeron en general en los colectores fondeados a mediados de mayo (año 2007) y a principios de junio (año 2008), mientras que disminuyeron hasta llegar a valores mínimos en los colectores colocados a mediados de junio y principios de julio. Posteriormente las tasas de asentamiento aumentaron ligeramente, aunque los valores alcanzados fueron menores que los observados previamente (Fig. 6.11.).

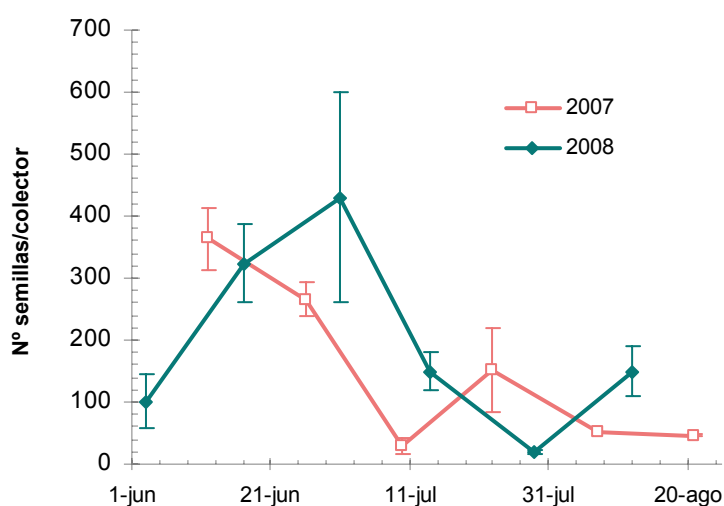
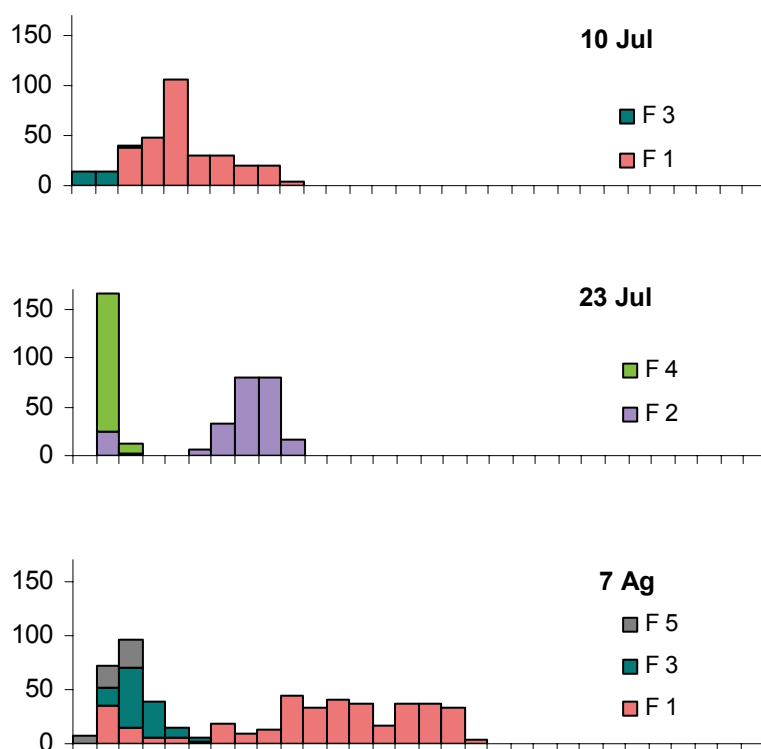


Fig. 6.11. Patrón de asentamiento de la semilla de *A. opercularis* en colectores fondeados cada 2 semanas después de 1 mes de inmersión, en 2 años sucesivos.

En el año 2007, la distribución de tallas de las semillas que se fijaron en muestreos sucesivos mostró que se asentaron 4 cohortes durante el período de estudio. Transcurridas 4 semanas, se recogió una primera cohorte los días 12 y 26 de junio en las series F1 y F2 respectivamente. Sin embargo, esta cohorte no estuvo presente en F3, que se fondeó el 12 de junio. En consecuencia, la disminución de la semilla tuvo lugar entre el 15 de mayo, cuando se fondeó la serie F1, y el 26 de junio, el día de muestreo de F2. De acuerdo con la distribución de tallas de las semillas, el asentamiento ocurrió al mismo tiempo en las dos series. Hay un número significativamente mayor de semilla en F1 que en F2 (363 ± 50 semillas por bolsa vs. 265 ± 27 semillas por bolsa), lo que indica que o bien el asentamiento empezó poco antes del 29 de mayo, la fecha de fondeo de F2, o bien que los colectores necesitan un periodo de envejecimiento antes de ser efectivos. En el primer muestreo de F3 el 10 de julio se registró un pequeño número de semilla correspondiente a la segunda cohorte (29 ± 13 semillas por bolsa). El 23 de julio el asentamiento de esta cohorte alcanzó las 152 ± 69 semillas por bolsa en F4. Se puede observar que el asentamiento continuó con 121 ± 8 semillas por bolsa en F3 después de 8 semanas (7 de agosto) y 229 ± 57 semillas por bolsa en F4 (21 de agosto). Aunque los colectores estuvieron en el mar durante el asentamiento de C2, esta cohorte apenas estuvo presente en F1 y F2, alcanzando máximos de 65 ± 11 y 30 ± 11 semillas por bolsa respectivamente. El final del asentamiento de esta cohorte se registró el 4 de septiembre en la serie F5 (43 ± 30 semillas por bolsa), junto con el principio del asentamiento de la tercera cohorte. Ésta y la cuarta cohorte se recogieron en F6. Ambas fueron poco importantes, con una media de aproximadamente 40 semillas por colector. Las cohortes C3 y C4 no estuvieron presentes en los colectores de las series F1, F2 y F3 (Fig. 6.12.).



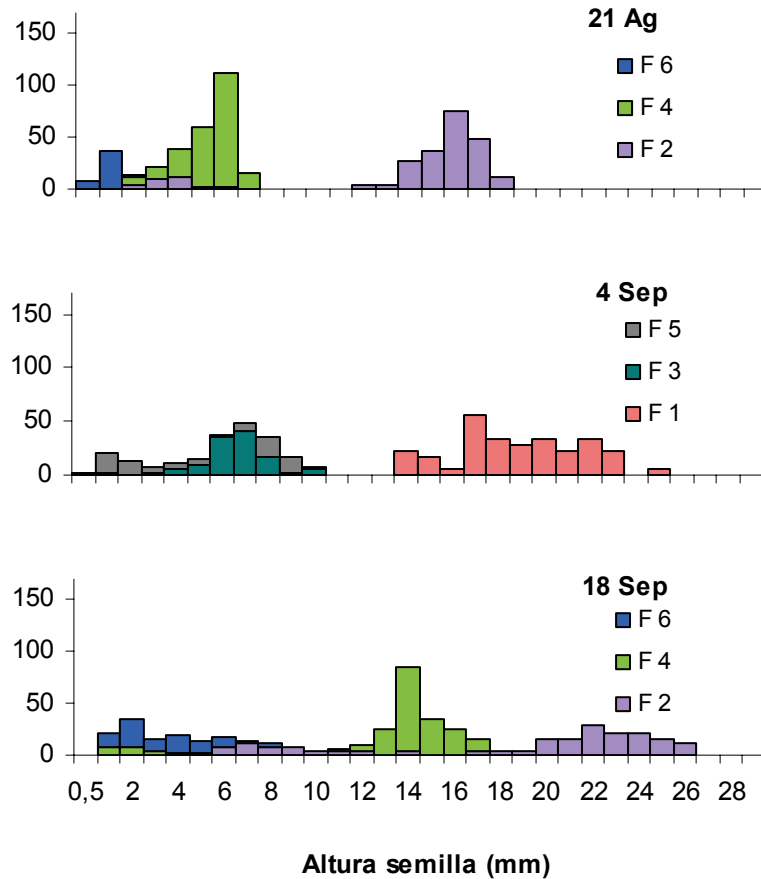
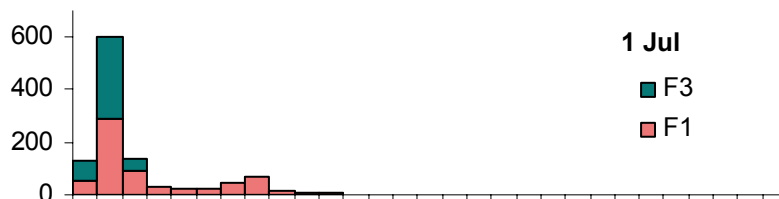


Fig. 6.12. Distribución de la frecuencia de tallas (altura en mm) de la semilla asentada en las 6 series de colectores fondeadas en fechas sucesivas en 2007 (F1-F6).

En el año 2008, la primera cohorte, que apareció entre el 6 y el 20 de mayo, sólo se asentó en F1 (101 ± 43 semillas por bolsa). La principal fijación de semilla que tuvo lugar durante el período de estudio tuvo lugar más tarde y apareció en F2 pasadas 4 semanas desde su fondeo (17 de julio; 323 ± 63 semillas por bolsa). También apareció en F1 después de 8 semanas (1 de julio; 490 ± 149 semillas por bolsa) y en F3 tras 4 semanas (1 de julio; 430 ± 169 semillas por bolsa). Además, se observó en F4 después de 4 semanas, pero en menor cantidad (14 de julio; 150 ± 31 semillas por bolsa). Esta cohorte se asentó por un periodo de un mes, desde el 17 de junio hasta el 14 de julio. En la semana 8 se registró un incremento en el número de semilla de los colectores de todas las series, excepto en F1. Debido a las dificultades para realizar el muestreo en las fechas intermedias en F5 y F6, no se pudo determinar con exactitud el posterior patrón de asentamiento, aunque hubo evidencias del asentamiento de una tercera cohorte más pequeña y de una cuarta en F6 (Fig. 6.13.).



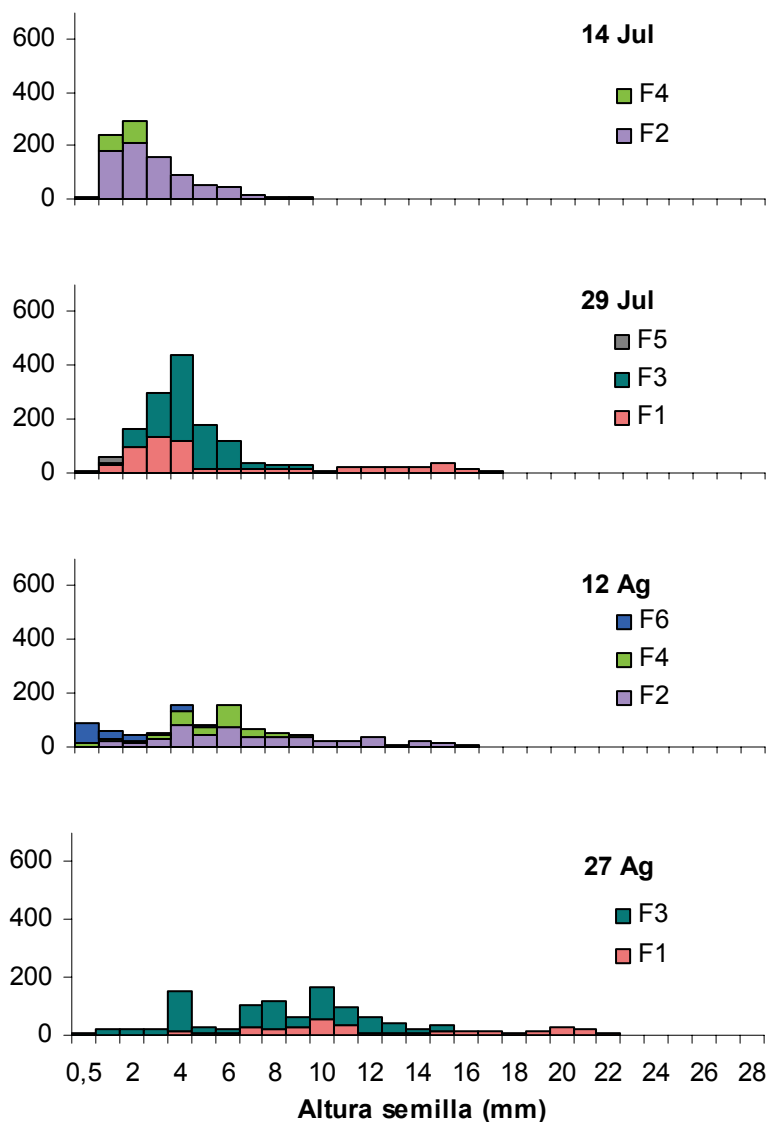


Fig. 6.13. Distribución de la frecuencia de tallas (altura en mm) de la semilla asentada en la 6 series de colectores fondeadas en fechas sucesivas en 2008 (F1-F6).

6.3.1.2 Evolución en el número de semilla

En el año 2007, aunque la cohorte C1 de la serie F1 mostró una disminución en el número total de semilla, pasando de 363 ± 56 semillas por colector después de 4 semanas a 237 ± 100 tras 16 semanas, estas diferencias no fueron significativas (ANOVA de un factor, $P=0,262$). La C1 también se asentó en F2. En esta serie se registró una disminución significativa (ANOVA de un factor, $P=0,0003$) en el número de semilla desde el primer muestreo (4 semanas, 262 ± 27 semillas por colector) hasta el despegue (16 semanas, 141 ± 77 semillas por colector; Fig. 6.14.).

La segunda cohorte asentada, C2, se observó en las series F1, F2, F3, F4 y F5, pero en muy poca cantidad en F1 y F2, con valores medios de 30-65 semillas por colector. Los valores más elevados se registraron en F3 y F4, en ambos casos cuando los colectores tenían 8 semanas, y los valores variaron entre 120-230 semillas por colector. En F3 se observaron diferencias significativas ($P=0,0032$) entre el número de semillas asentadas después de 4 semanas y aquellas asentadas en colectores más viejos, al haber continua-

do el asentamiento. Los valores más altos se alcanzaron después de 8 semanas y se mantuvieron hasta el despegue. En F4, no se registraron diferencias significativas ($P=0,729$) en el número de semillas halladas en las muestras sucesivas (Fig. 6.14.). Las cohortes C3 y C4 fueron consideradas de menor importancia este año.

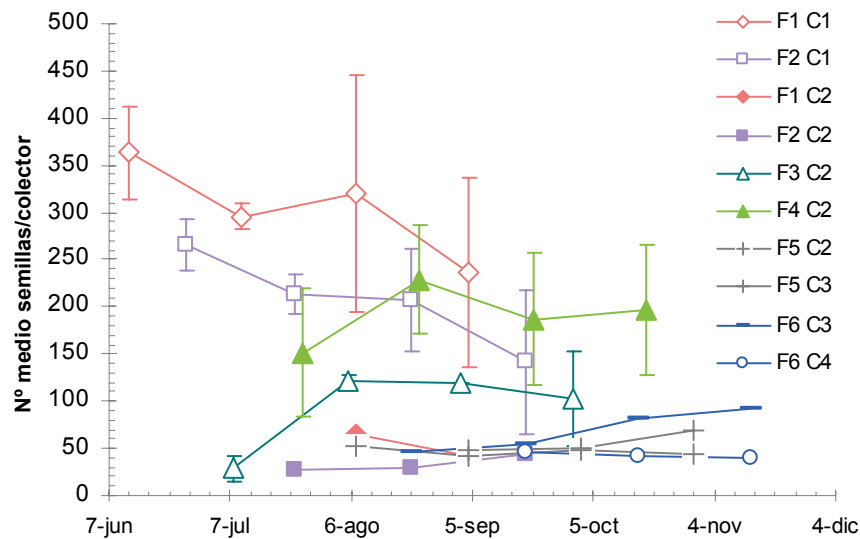


Fig. 6.14. Evolución del número de semillas de las cohortes sucesivas (C1, C2, C3, C4) asentadas en colectores fondeados en diferentes fechas durante el año 2007 (F1-F6).

La primera cohorte (C1) asentada en el año 2008 en la serie F1 no presentó diferencias significativas en el número de semillas asentadas durante el periodo de estudio. La C2, segunda cohorte asentada en F1, que aparece la semana 8, mostró los mismos valores durante los muestreos de las semanas 8 y 14. Sin embargo, se produjo una disminución significativa en la cantidad de semilla durante el despegue. Cuando la C2 se asentó en la serie F2, la cantidad de semilla fue significativamente menor que los valores obtenidos después de la semana 8. Los valores posteriores no mostraron diferencias significativas. De nuevo, la C2 asentada en F3, fue la que mostró un número menor y significativamente diferente en el primer muestreo en comparación con los valores sucesivos hasta el despegue (Fig. 6.15.). Al igual que en el año 2007, las cohortes C3 y C4 fueron consideradas de menor importancia este año.

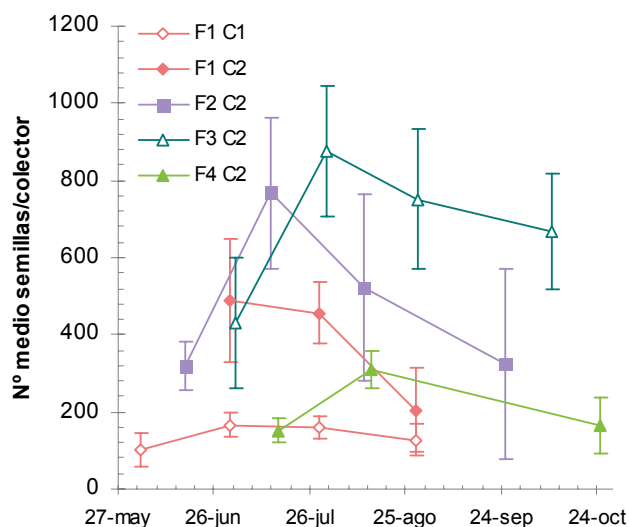


Fig. 6.15. Evolución del número de semillas de las principales cohortes (C1, C2) asentadas en colectores fondeados en diferentes fechas durante el año 2008 (F1-F4).

6.3.1.3 Crecimiento de la semilla

El crecimiento de las cohortes C1 y C2 durante los años 2007 y 2008 está representado en la Figura 6.16. En ambos años, las semillas de la primera cohorte presentaron una mayor tasa de crecimiento, probablemente debido a que en los dos años el asentamiento tuvo lugar en un período corto de tiempo. El 12 de junio de 2007 la talla media de la semilla fue de 0,85 mm, y 98 días después de 22,3 mm (tasa de crecimiento de 0,218 mm/día). En el año 2008 la tasa de crecimiento de la primera cohorte fue de 0,200 mm/día. La cohorte C2 de ambos años tuvo un período de asentamiento prolongado, lo cual implicó una tasa de crecimiento inicial baja y una distribución de tallas amplia ya que en la cohorte se incluían también animales jóvenes, de menor tamaño. La tasa media de crecimiento de la segunda cohorte en los años 2007 y 2008 fue de 0,189 mm/día y 0,148 mm/día respectivamente. Las tasas de crecimiento de las cohortes C1 y C2 fueron más altas en el año 2007 que en el año 2008, lo que probablemente fue debido a una mayor densidad de semilla por colector en el año 2008. En el despegue del año 2007, los valores de densidad de la primera cohorte variaron entre 141-236 semillas por colector, mientras que la densidad de la segunda cohorte varió entre 102-196. En el año 2008, los valores de densidad fueron de 213 semillas en la C1 y 370-753 en la C2.

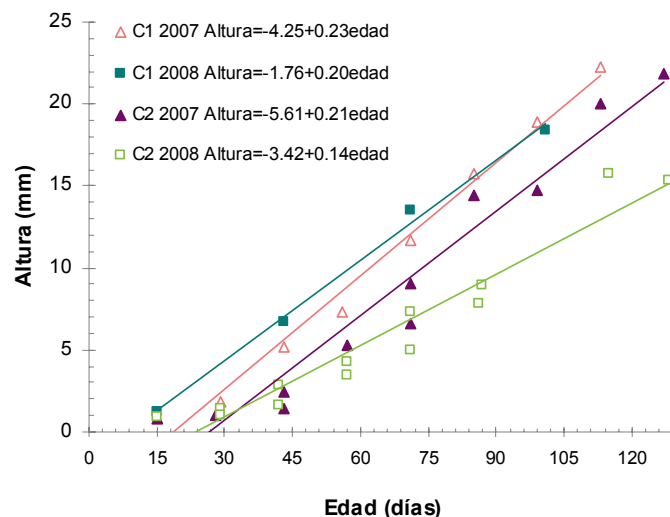


Fig. 6.16. Curvas de crecimiento de las cohortes 1 y 2 durante los años 2007 y 2008.

6.3.1.4 Predadores

En los colectores, además de asentarse la semilla de los pectínidos, también se encontraron algunos equinodermos y decápodos. En el momento de la recolección, se recogieron ocasionalmente las estrellas de mar: *Asterias rubens* y *Marthasterias glacialis*, y los decápodos: *Necora puber* y *Liocarcinus depurator*. Éste último estuvo presente en todas las series colocadas excepto en F1, pero siempre en densidades muy bajas (Fig. 6.17.). La especie más abundante fue el erizo de mar *Psammechinus miliaris* (Fig. 6.18.), considerado omnívoro, y parte de su dieta está formada por moluscos (Hancock, 1975; Otero-Villanueva *et al.*, 2006).

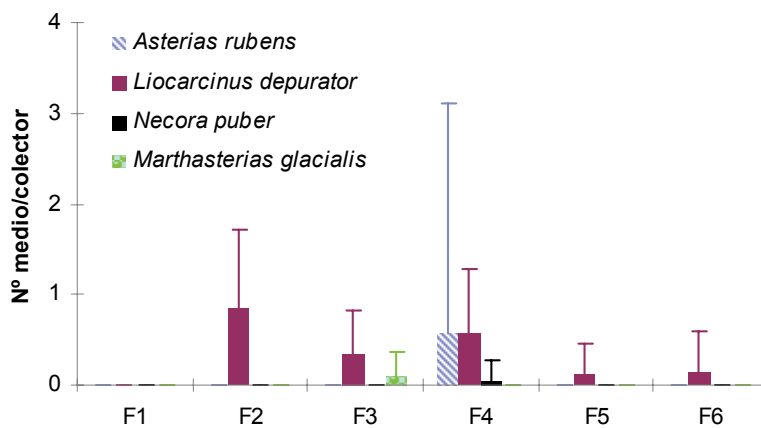


Fig. 6.17. Número de predadores encontrados en las series sucesivas de colectores transcurridas 16 semanas.

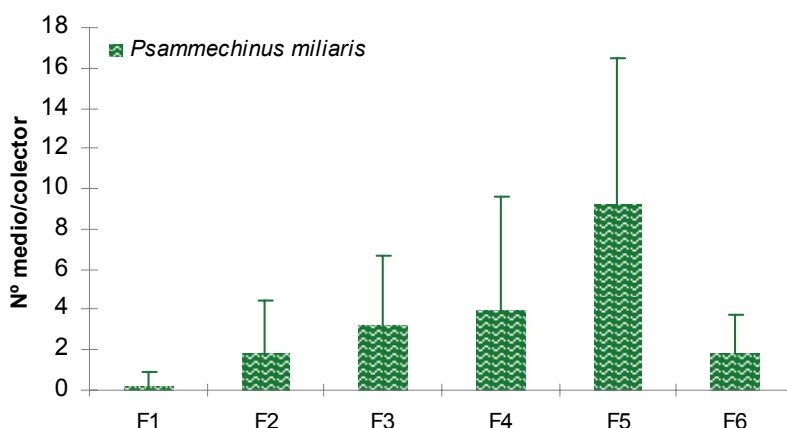


Fig. 6.18. Presencia del erizo de mar *Psammechinus miliaris* en las series sucesivas de colectores transcurridas 16 semanas.

6.3.2 Asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos

6.3.2.1 Patrones de asentamiento

Año 2007

El número de semilla registrado 40 días después del fondeo, se muestra en la Figura 6.19. Se registraron valores máximos de captación a mediados de julio (293 semillas por colector), seguidos de un brusco descenso en los colectores posteriores, con valores medios de alrededor de 90 semillas por colector y un nuevo incremento, con valores medios cercanos a 200 semillas por colector a mediados de septiembre.

Año 2008

Aproximadamente 40 días después del fondeo de los colectores se registró un primer pico de fijación entre los meses de junio y julio, con valores de alrededor de 150 semillas por colector (Fig. 6.19.). Después de fijaciones mínimas en agosto, se registra un nuevo período de asentamiento de semilla entre septiembre y octubre, con fijaciones máximas de alrededor de 250 semillas por colector. A partir de mediados de octubre se registró un descenso en la intensidad de fijación de la semilla de *Chlamys varia*.

Año 2009

En el muestreo realizado al cabo de 8-9 semanas después del fondeo de los colectores se registraron valores máximos de captación entre los meses de septiembre-octubre, del orden de las 150 semillas por colector (Fig. 6.19.). A continuación los valores descendieron paulatinamente, con fijaciones mínimas en los colectores fondeados a partir de mediados de octubre.

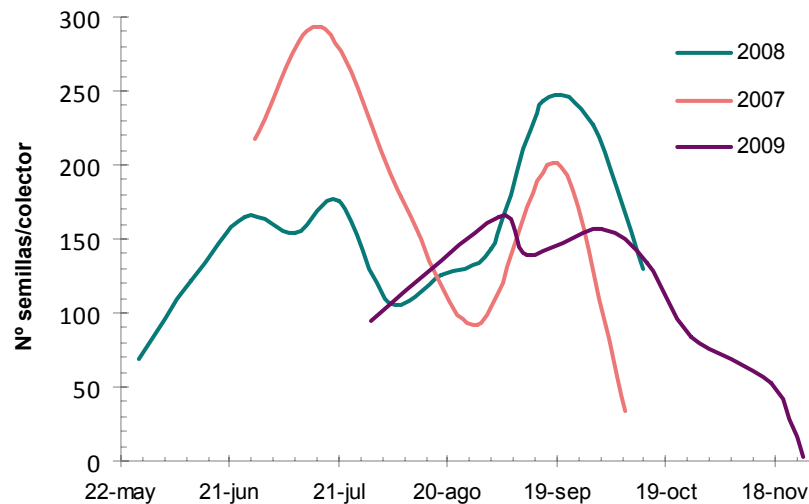


Figura 6.19. Patrón de asentamiento de la semilla de *C. varia* durante los años 2007, 2008 y 2009.

Estos resultados muestran, por lo tanto, la fijación de una primera cohorte en los colectores fondeados en primavera que decrece progresivamente en las series de colectores fondeadas a principios de verano. A finales de verano tiene lugar la fijación de una segunda cohorte, cuyo número disminuye progresivamente durante el otoño.

6.3.2.2 Rendimiento de los colectores

Durante el despegue se obtiene la semilla que se empleará para el cultivo. En este estudio el despegue se realizó de forma escalonada cuando los colectores tenían, aproximadamente, una edad de entre 4 y 7 meses.

Año 2007

El número medio de semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.20. Se observó una diferencia notable entre el número de semilla registrado al cabo de 40 días y en el momento del despegue. De hecho, en el despegue, no se obtuvo semilla en los colectores de la serie F1 (4-5 zamburiñas por colector). En los colectores de las otras series el porcentaje de semilla que se recupera en el momento del despegue, es decir, la eficiencia de recuperación según Avendaño *et al.* (2002), osciló entre el 22,9% en la serie F2 y el 95,5% en la serie F5, cuando se comparan los valores finales con el número de semillas registrado al cabo de 40 días. En la Figura 6.21 se muestra la eficiencia de recuperación aplicando la fijación registrada al cabo de 40 días, respecto al número de semilla en el momento del despegue. Por lo tanto, la eficiencia de recuperación aumenta a medida que transcurre la temporada de cría de la zamburiña y es mayor en los colectores fondeados a finales de verano.

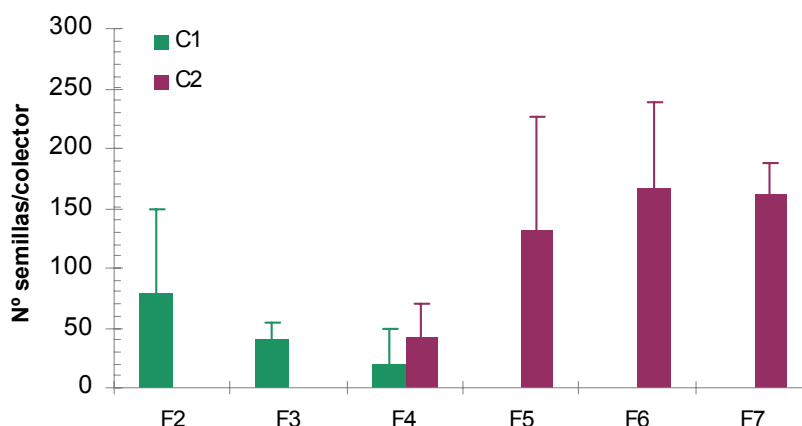


Fig. 6.20. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas (F2 a F7) durante el año 2007. C1: primera cohorte asentada, C2: segunda cohorte asentada.

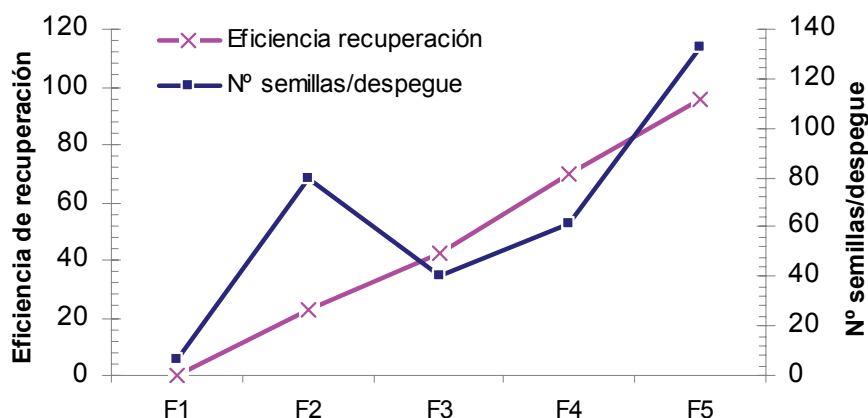


Fig. 6.21. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en los colectores en el momento del despegue y eficiencia de recuperación durante el año 2007.

La distribución de tallas de la semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.22. De acuerdo con la distribución registrada consideramos que la semilla presente en las series F2 y F3 se corresponde con la semilla de la primera cohorte; parte de la semilla de la serie F4 corresponde a la cohorte 1 y parte a la cohorte 2 y la semilla de las series F5, F6 y F7 corresponde a la fijación de la segunda cohorte. La semilla de la segunda cohorte sólo se expresa claramente en las series F5, F6 y F7. En la serie F4 está presente pero con talla menor, debido bien a la competencia o bien a una depredación selectiva. Si bien la segunda cohorte probablemente se fije en las series F1, F2 y F3, no aparece en el momento del despegue. En el caso de la serie F1, no se registró semilla en los colectores, debido a la depredación. En las series F2 y F3 posiblemente sí haya semilla de esta segunda cohorte, pero como el despegue se realizó in situ y de visu, sin ayuda de lupas, es posible o bien que se haya perdido debido a su pequeño tamaño (la segunda cohorte se observó el 19 de septiembre y el despegue tuvo lugar el 8 de octubre y el 12 de noviembre en las series F2 y F3, respectivamente) o bien que haya sido depredada por la fauna presente en los colectores en el momento en que se fijó, ya que éstos estaban fuertemente colonizados debido a su prolongado período de inmersión (104 y 83 días de edad, respectivamente, el 19 de septiembre). Las series F2 y F3, en las cuales se fijó la primera cohorte, mostraron la semilla de mayor tamaño. En la serie F4 se apreció claramente una distribución bimodal, que

corresponde a la semilla de la primera y segunda cohorte, mientras que en las series F5, F6 y F7 se observó únicamente semilla de la segunda cohorte, y por ello de menor tamaño.

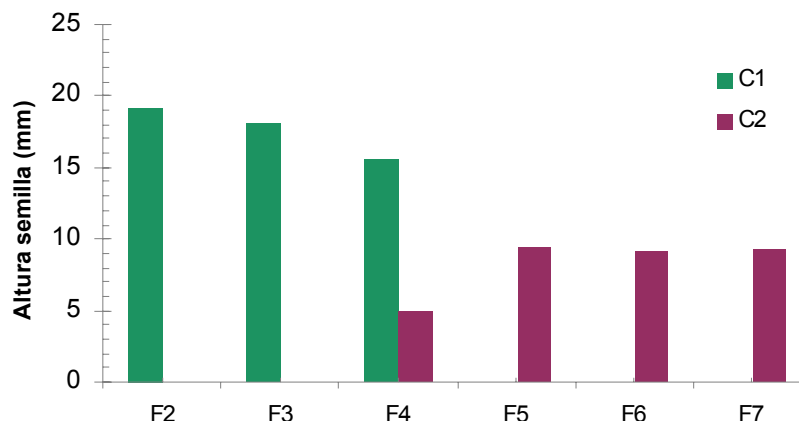


Fig. 6.22. Talla media de la semilla de *C. varia* presente en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas (F1 a F7) durante el año 2007. C1: primera cohorte asentada, C2: segunda cohorte asentada.

Año 2008

El número medio de semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.23. En los colectores de las series F1 a F3 se muestra el número medio de cada cohorte fijada. Igual que durante el año anterior, se observó una diferencia notable entre el número de semilla registrado al cabo de 4-8 semanas y en el momento del despegue. La eficiencia de recuperación obtenida al comparar los valores finales con el número de semillas registrado al cabo de 4-8 semanas, osciló entre el 6,79% en la serie F1 y el 57,95% en la serie F8 (Fig. 6.24.).

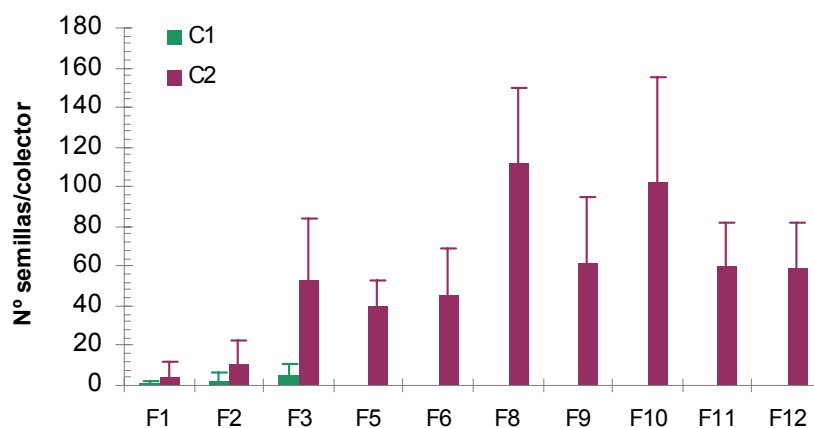


Fig. 6.23. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2008. C1: primera cohorte asentada, C2: segunda cohorte asentada.

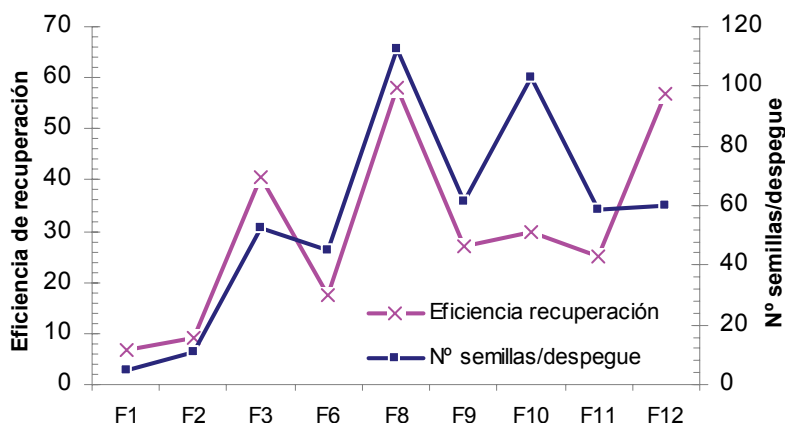


Fig. 6.24. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en los colectores en el momento del despegue y eficiencia de recuperación durante el año 2008.

La distribución de tallas de la semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.25. De acuerdo con la distribución registrada parte de la semilla de las series F1-F3 corresponde a la cohorte 1 y parte a la cohorte 2, apreciándose claramente una distribución bimodal. La semilla de las demás series de colectores (F5-F12) corresponde únicamente a la fijación de la segunda cohorte y por ello su talla es menor.



Fig. 6.25. Talla media de la semilla de *C. varia* presente en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2008. C1: primera cohorte asentada, C2: segunda cohorte asentada.

Año 2009

El número medio de semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.26. Se observaron diferencias entre el número de semilla registrado al cabo de 8-9 semanas y en el momento del despegue en las series de colectores F1-F4, en las series posteriores las diferencias se hacen menos notables. La eficiencia de recuperación osciló entre el 9,04% en la serie F1 y el 98,67% en la serie F6, al comparar los valores finales con el número de semillas registrado al cabo de 8-9 semanas (Fig. 6.27.). Por lo tanto, la eficiencia de recuperación aumenta a medida que transcurre la temporada de cría de la zamburiña y es mayor en los colectores fondeados a finales de verano (máxima eficiencia registrada en la serie F6, fondeada el 28 de agosto).

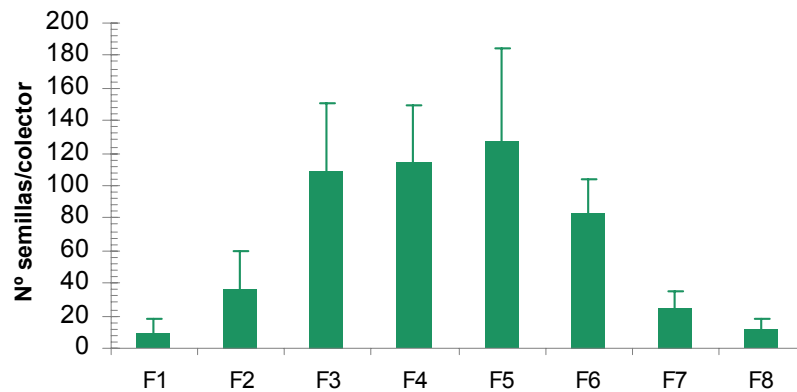


Fig. 6.26. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2009.

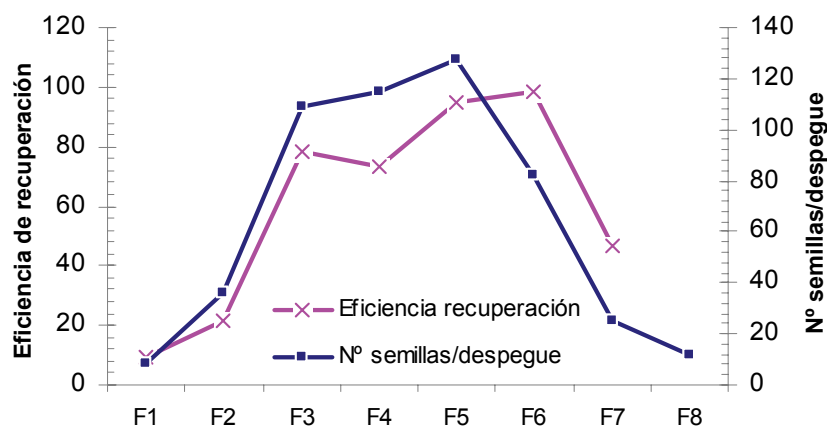


Fig. 6.27. Número medio de semillas de *C. varia* presentes en los colectores en el momento del despegue y eficiencia de recuperación durante el año 2009.

La distribución de tallas de la semilla obtenida en el momento del despegue en cada serie de colectores se muestra en la Figura 6.28. De acuerdo con la distribución registrada, se observó que la talla media de la semilla captada en las series F1 y F2 es mayor que en el resto de los colectores, lo que sugiere el asentamiento de una primera cohorte en las series F1 y F2 y una segunda cohorte que aparece al menos a partir de la serie F3 y por ello presenta una talla menor, que posiblemente también esté presente en las primeras 2 series de colectores.



Fig. 6.28. Talla media de la semilla de *C. varia* presente en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas (F1 a F8) durante el año 2009.

6.3.2.3 Predadores

Año 2007

Durante el año 2007 y de manera simultánea al asentamiento de la zamburiña, se registró también el asentamiento de otras especies, de las cuales hemos considerado la estrella de mar *Asterias rubens* y el erizo *Psammechinus miliaris* siendo éste último un predador potencial.

La estrella de mar *A. rubens* se asienta exclusivamente en los colectores de las series F1 y F2 fondeados el 18 de mayo y el 7 de junio. A partir del 28 de junio, fecha de fondeo de la serie F3, ya no se registra asentamiento de estrellas.

El erizo *P. miliaris* muestra también mayor asentamiento en las series F1 y F2, aunque sigue fijándose, en menor cantidad, en los colectores fondeados posteriormente.

Año 2008

Los colectores fondeados durante el año 2008, además de presentar asentamiento de la estrella de mar *Asterias rubens* y el erizo *Psammechinus miliaris*, mostraron la fijación de los crustáceos decápodos también consideradas predadores de la semilla de zamburiña: *Liocarcinus spp*, *Pilumnus hirtellus* y *Cancer pagurus*, según orden de abundancia.

La estrella de mar *A. rubens* mostró mayor asentamiento en las series F1 y F2, aunque siguió fijándose, en menor cantidad, en los colectores F3 y F4 (Fig. 6.31.). A partir del 10 de junio, fecha de fondeo de la serie F4, disminuye el asentamiento de estrellas. En el momento del despegue también se observó fijación de *A. rubens* en los colectores F1-F3. Como muestra la Fig. 6.31., el número de estrellas asentadas en los colectores de la serie F1 aumentó, obteniéndose en el despegue valores 6 veces mayores que al cabo de 4-8 semanas. La presencia de *A. rubens* estuvo asociada a una disminución en el número de semilla de *C. varia* que llegó incluso a ser total en algunos colectores.

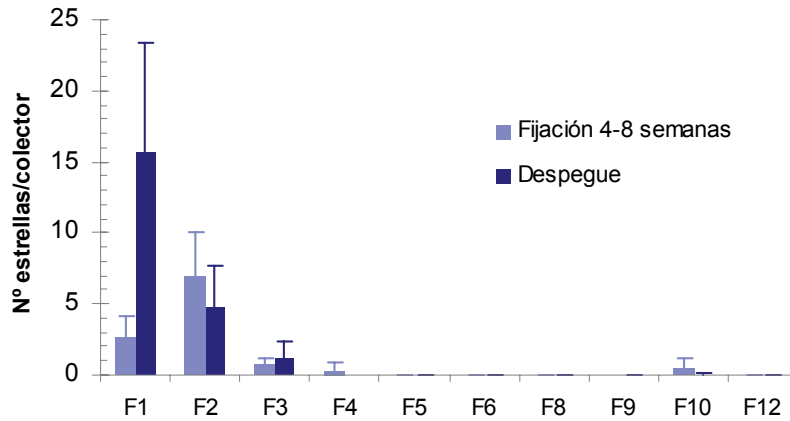


Fig. 6.31. Número medio de estrellas de mar *Asterias rubens* presentes en los colectores al cabo de 4-8 semanas y en el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2008.

P. miliaris estuvo presente en los colectores de las series F1-F12, pero su abundancia fue mayor en el momento del despegue de los colectores de las series F1-F3 (Fig. 6.32.).

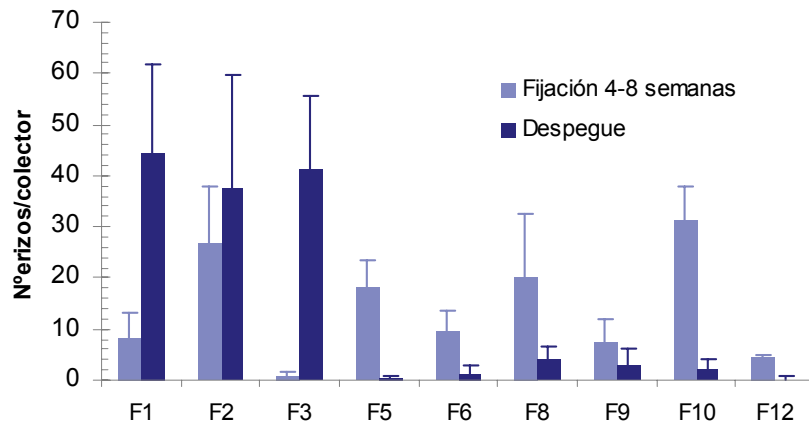


Fig. 6.32. Número medio de erizos *Psammechinus miliaris* presentes en los colectores al cabo de 4-8 semanas y el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2008.

Año 2009

En el año 2009 *A. rubens* se asentó principalmente en los colectores de las series F1-F3 fondeados el 26 de junio, 3 de julio y el 17 de julio (Fig. 6.33.). A partir del 31 de julio, fecha de fondeo de la serie F4, disminuye el asentamiento de estrellas. El máximo de asentamiento de este predador se obtuvo en la serie F1, con 14 estrellas por colector a las 8-9 semanas y 10 estrellas en el despegue.

El erizo *P. miliaris* muestra también mayor asentamiento en las series F1-F3 y su fijación disminuye progresivamente en los colectores fondeados posteriormente (Fig. 6.34.). Los valores máximos de asentamiento de *P. miliaris* en las series F1, F2 y F3 al cabo de 8-9 semanas y en el despegue fueron, respectivamente 131,3, 66,3, 58,3 y 116,6, 66,6, 34,8 erizos por colector.

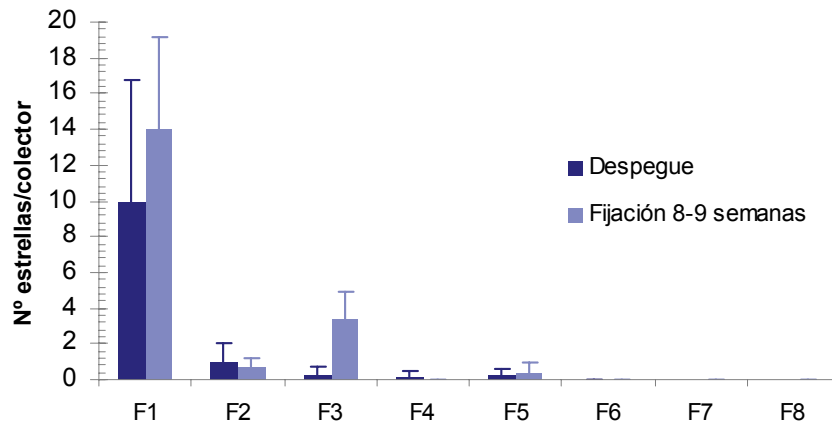


Fig. 6.33. Número medio de estrellas de mar *Asterias rubens* presentes en los colectores al cabo de 8-9 semanas y el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2009.

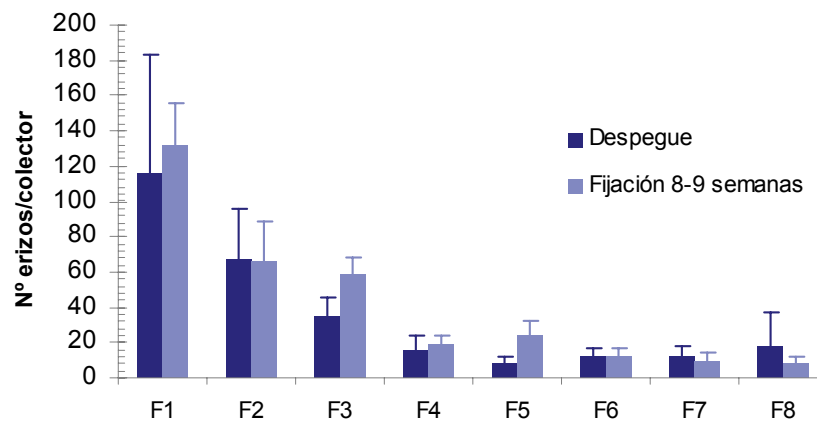


Fig. 6.34. Número medio de erizos *Psammechinus miliaris* presentes en los colectores al cabo de 8-9 semanas y el momento del despegue, en colectores fondeados en fechas sucesivas durante el año 2009.

6.4 Discusión

6.4.1 Asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra

En los colectores fondeados entre mayo y julio de 2007 y 2008 se registró el asentamiento de cuatro cohortes de *Aequipecten opercularis*. El asentamiento más importante, a partir del cual se podría desarrollar una industria de cultivo de pectínidos, tuvo lugar entre mediados de mayo y principios de junio de 2007 y 2008 respectivamente, y en ambos años procedente de las dos primeras cohortes. La primera cohorte asentada, aunque no muy intensa, produjo semilla de gran calidad que alcanzó aproximadamente los 20 mm de altura al ser despegada 16 semanas después del fondeo. Las dos últimas cohortes, que se obtuvieron a mediados y finales de verano respectivamente, fueron menos importantes.

Se registraron dos patrones de asentamiento: un asentamiento corto y rápido que duró 2 semanas (cohorte 1) y uno más largo que duró entre 4 y 6 semanas (cohorte 2). En este último, al prolongarse durante varias semanas, se registraron las mayores fijaciones en colectores de 8 semanas de edad. Después de estas 8 semanas se observa un asentamiento de poca intensidad. Al ser sumergidos, los colectores fueron rápidamente colonizados interior y exteriormente, no sólo por *A. opercularis*, sino también por otros organismos, incluidas especies competidoras y predadoras. Por lo tanto, es posible que las nuevas cohortes de *A. opercularis* tuvieran dificultades para atravesar la malla o asentarse en los colectores más antiguos y colonizados, y que de este modo, fuesen depredados por predadores previamente asentados. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sause *et al.* (1987), que señalan que el éxito del asentamiento disminuye después de 2 meses en el mar. Sin embargo, Thouzeau (1991a, 1991b) observó un descenso en el asentamiento tras 33-45 días.

Se observaron diferencias significativas en el número de semillas de *A. opercularis* captadas mediante colectores en muestreos sucesivos. Las diferencias son positivas cuando hay un asentamiento continuo de la misma cohorte o cuando una nueva cohorte empieza a asentarse, mientras que son negativas cuando el número de individuos disminuye por fugas o por depredación. En este estudio se produjeron ambas situaciones, obteniéndose tanto diferencias positivas como negativas. Sin embargo, en esta área, el asentamiento de predadores no fue tan fuerte como para explicar el descenso en el número de semillas recogidas en algunos colectores, por lo que debe haber otras razones que expliquen la disminución de la semilla de *A. opercularis*. El predador potencial más abundante fue el erizo de mar *Psammechinus miliaris*, que se asentó en todos los colectores. Sin embargo, el número de semillas de volandeira captadas no disminuyó en función de su presencia. Es posible que predadores de pequeño tamaño, que no se capturaron en el momento del despegue y que se alimentan de semillas pequeñas y recién asentadas, sean los responsables. Sin embargo, el descenso en el número de semillas captadas no fue tan grande como el registrado por Avendaño *et al.* (2006), que describieron una eficiencia de recuperación del 5,5% para colectores sumergidos durante 4 o 5 meses, frente a un 59,4% en colectores sumergidos 1 mes. Estos autores atribuyen la pérdida de un gran porcentaje de semilla en un periodo de inmersión superior a 4-5 meses en comparación con el asentamiento en el primer mes, a la competencia intraespecífica de las semillas, así como a la obstrucción de los colectores por el sedimento y el fouling que impiden el flujo de agua a través de la red. En este estudio, la eficiencia de recuperación fue del 80%, excepto en los colectores que capturaron una gran cantidad de semilla, como en

2008, cuando la eficiencia disminuyó hasta un 40-50%. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mayor abundancia de semilla se obtuvo con frecuencia después de 8 semanas, y que los colectores fueron despegados a las 16 semanas de inmersión. Una elevada densidad de semillas en los colectores conduce no solo a un descenso en el número final de semillas, sino también en la tasa de crecimiento, tal como se observó cuando la densidad superaba las 400 semillas por colector. En cualquier caso, la semilla creció suficientemente rápido como para permitir el despegue de semillas de gran tamaño y, por lo tanto, fáciles de manejar solamente 4 meses después del fondeo. En ese momento, predadores como *A. rubens*, *N. puber* y *L. depurator*, son suficientemente grandes para ser eliminados con facilidad y ya no constituirán un problema, puesto que el siguiente reclutamiento de predadores tendrá lugar al año siguiente, cuando los pectínidos medirán 50 mm de altura y los nuevos depredadores todavía no se podrán alimentar de ellos.

El número de semillas de *A. opercularis* recogidas por colector en Aldán y su tasa de crecimiento, permitirían el desarrollo de una prometedora industria de acuicultura. Después de un año en cultivo en suspensión, *A. opercularis* alcanza un peso medio de 20-25 g (Román *et al.*, 1999), por lo que se obtendría un rendimiento que variaría entre 4-10 kg por colector.

6.4.2 Asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos

Se determinó el patrón de asentamiento de la semilla de *Chlamys varia* a lo largo de tres años de estudio. Aunque los períodos en los que se realizaron los fondeos tuvieron distintos rangos y amplitud, se observó un primer período de asentamiento en primavera-verano con valores máximos en julio (150-300 semillas por colector, según los años). Después de un descenso en la intensidad de asentamiento entre los meses de julio y agosto, se observó un nuevo período de captaciones que finalizó a mediados de otoño y que mostró valores máximos entre 150-250 semillas por colector, según los años.

Durante el estudio se registraron variaciones interanuales en la intensidad de fijación de la semilla de zamburiña. Sin embargo, se observaron claramente dos períodos principales de asentamiento: el primero de ellos procedente del desove principal, que tiene lugar entre primavera y principios de verano; y el segundo procedente del desove que se registra a finales de verano-principios de otoño. Aunque, como se señala en el Capítulo 3, el segundo desove de *C. varia* es de menor importancia, la intensidad de fijación de la semilla de esta especie es comparable en ambos periodos de asentamiento. En el año 2009 no se fondearon colectores durante la primavera, por lo que no se registraron captaciones correspondientes al primer desove.

Comparando el patrón de asentamiento de *C. varia* obtenido en la ría de Ares-Betanzos con datos previos en Castellón (Peña *et al.* 1996) y Málaga (Cano *et al.* 1999), se observa que esta especie presenta en España un largo periodo de reclutamiento que incluye desde el mes de abril hasta septiembre, presentando en Galicia un pequeño retraso en el inicio de la fijación de semilla (ausencia del asentamiento en el mes de abril). Se han registrado dos periodos principales de asentamiento de zamburiña. La estrategia reproductiva que extiende el reclutamiento por un largo periodo de tiempo, puede ser una buena estrategia adaptativa para aumentar la probabilidad de éxito en condiciones am-

bientales variables, principalmente de temperatura y disponibilidad de alimento (Newell *et al.*, 1982; Paulet *et al.*, 1988; Avendaño, 1993).

Durante el estudio se asentaron dos cohortes anuales y cada una de las cohortes mostró un período de fijación muy prolongado en el tiempo. La fijación de la primera cohorte fue más intensa en los colectores fondeados entre los meses de mayo y junio, y disminuyó progresivamente en las series de colectores fondeadas a finales de junio-finales de julio. Al finalizar el verano tuvo lugar una segunda fijación de semilla (segunda cohorte), extendiéndose hasta finales del mes de octubre. Estos resultados muestran diferencias con los descritos por Thouzeau (1991) en colectores fondeados en la Bahía de St. Briec (Francia), que obtiene un mayor número de cohortes asentadas (4 cohortes) y valores máximos de asentamiento a principios del mes de agosto.

La abundancia de semilla de *C. varia* fijada en los colectores, que durante los periodos principales de asentamiento es próxima a las 300 semillas por colector, supera con diferencia la semilla obtenida en otras localizaciones donde no se superaron las 100 semillas por colector (Acosta *et al.*, 1999; Peña *et al.*, 2002 o Peña, 2005). En base a los resultados obtenidos en este estudio, el índice de captación en la Ría de Ares-Betanzos es bueno, puesto que se encuentra entre las 100 y las 1000 semillas por colector (Pickett, 1980) y esta elevada abundancia de semilla asentada, favorece la posibilidad de cultivo de *Chlamys varia* en esta Ría.

La eficiencia de recuperación aumentó a medida que transcurría la temporada de cría de la zamburiña (22,9%→95,5% año 2007, 6,79%→57,95%, año 2008, 9,04%→98,67%, año 2009), siendo menor durante el año 2008 debido a la fuerte depredación por la estrella de mar, y la mayor eficiencia se obtuvo en los colectores fondeados a finales de verano. Sause *et al.* (1987), Román & Cano (1987) y Avendaño *et al.* (2007) describen una eficiencia óptima de los colectores semejante a la obtenida en este estudio.

De manera simultánea al asentamiento de la zamburiña, se registró también el asentamiento de especies predatoras: la estrella de mar *Asterias rubens* y los crustáceos decápodos *Liocarcinus spp*, *Pilumnus hirtellus* y *Cancer pagurus*. La semilla de los pectínicos es muy susceptible de predación (Román *et al.*, 2001). Por este motivo, los predadores ocasionan altas mortalidades a la vez que aumentan considerablemente su talla (Maguire & Burnell, 1999).

La estrella de mar *Asterias rubens* mostró mayor asentamiento en las series de colectores de principio de temporada, disminuyendo su fijación a principios de junio durante los años 2007 y 2008, y un poco más tarde, a finales de julio, durante el año 2009. Los valores máximos de asentamiento de este predador se obtuvieron entre mediados de mayo y finales de junio. La presencia de *A. rubens* en los colectores estuvo asociada a una disminución en el número de semilla de *C. varia* que llegó incluso a ser total en algunos colectores.

El erizo *Psammechinus miliaris* mostró el mismo patrón de asentamiento que la estrella de mar *Asterias rubens* durante los años 2007-2009, obteniéndose valores máximos de asentamiento de este predador potencial entre finales de abril y finales de junio. Aunque se haya descrito como predador, en nuestro caso no observamos relación entre presencia de erizo y mortalidad de *C. varia*.

En base a los resultados de este estudio, el momento óptimo para el fondeo de colectores en la Ría de Ares-Betanzos debería comenzar a partir de julio, para así obtener una elevada captación de semilla de *Chlamys varia* y, al mismo tiempo, soslayar el asentamiento de las especies predadoras potenciales.

El número de semillas de *Chlamys varia* captadas por colector en la Ría de Ares-Betanzos, permitiría el desarrollo de una prometedora industria de acuicultura en la zona de estudio.

6.5 Conclusiones

- Se observan diferencias significativas, tanto positivas como negativas, en el número de semillas de pectínidos captadas mediante colectores en muestreos sucesivos. Diferencias positivas causadas por un asentamiento continuo de la misma cohorte o por el comienzo del asentamiento de una nueva cohorte, y diferencias negativas causadas por predadores o fugas de los colectores.

Asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra

- *Aequipecten opercularis* presenta dos períodos principales de asentamiento en Aldán, Ría de Pontevedra. El primero de ellos en primavera-verano con valores máximos en los colectores fondeados entre mediados de mayo y principios de junio. Desciende la intensidad de fijación entre mediados de junio-principios de julio y a finales de verano muestra un nuevo período de asentamiento de menor intensidad.
- Se ha registrado el asentamiento de 4 cohortes de semilla de *A. opercularis* anuales. El asentamiento más importante, a partir del cual se podría desarrollar una industria de cultivo de volandeira tiene lugar entre mediados de mayo y principios de junio de 2007 y 2008 respectivamente, y en ambos años procede de las dos primeras cohortes. Las dos últimas cohortes que se obtienen a mediados y finales de verano respectivamente, son poca importantes y no sustentarían un cultivo comercial.
- Los colectores son eficaces captando semilla de *A. opercularis* durante aproximadamente 8 semanas.
- La semilla de *A. opercularis* alcanza un tamaño adecuado para su manejo en el despegue 4 meses después del fondeo.
- El número de semillas de *A. opercularis* recogidas por colector en Aldán y su tasa de crecimiento, permitirían el desarrollo de una industria de acuicultura. Después de un año en cultivo en suspensión, *A. opercularis* alcanza un peso medio de 20-25 g (Román *et al.*, 1999), por lo que se obtendría un rendimiento que variaría entre 4-10 kg por colector.

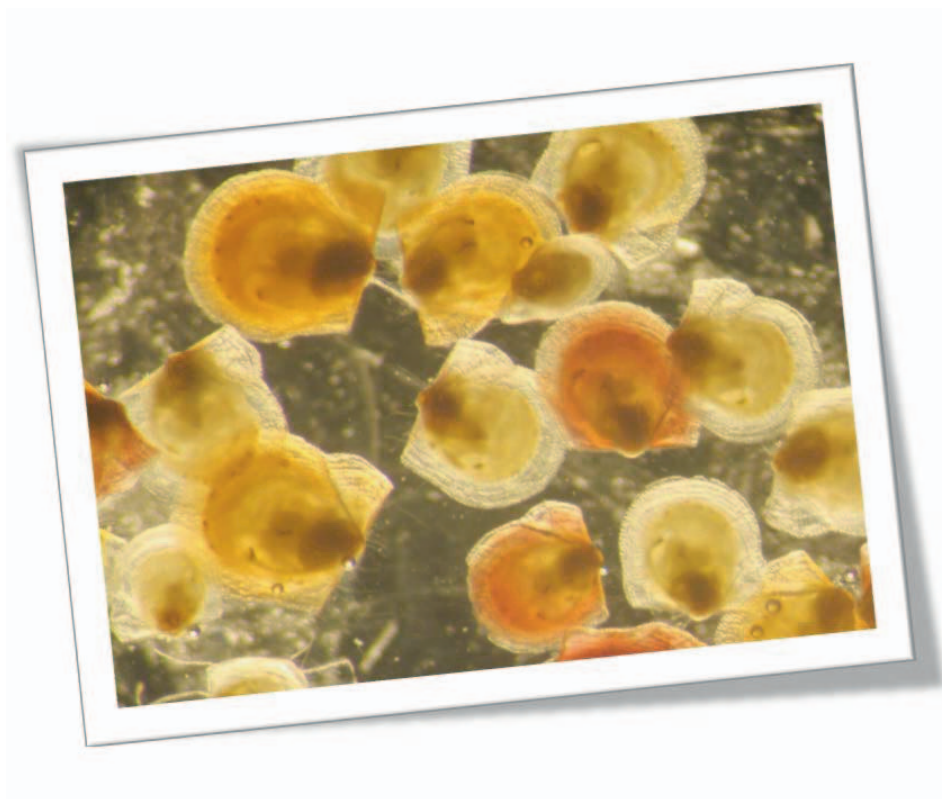
Asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos

- *Chlamys varia* presenta dos períodos principales de asentamiento en la Ría de Ares-Betanzos. El primero de ellos en primavera-verano con valores máximos durante el mes de julio. Desciende la intensidad de fijación entre los meses de julio y agosto y muestra un nuevo período de asentamiento desde finales de verano hasta mediados de otoño. Consecuentemente, se fijan 2 cohortes de semilla anuales y cada una de ellas muestra un período de fijación muy prolongado.
- La intensidad de captación de semilla de *C. varia* en la Ría de Ares-Betanzos toma valores de 300 semillas por colector durante los periodos principales de asentamiento y esta elevada abundancia de semilla asentada, favorece la posibilidad de cultivo de *Chlamys varia* en esta Ría.

- La eficiencia de recuperación aumenta a medida que transcurre la temporada de cría de la zamburiña, coincidiendo con la finalización de la temporada de reclutamiento de *Asterias rubens*.
- En base a los resultados de este estudio, el momento óptimo para el fondeo de colectores en la Ría de Ares-Betanzos comienza a partir de julio, ya que se reduce el asentamiento de la estrella de mar *Asterias rubens*.
- El número de semillas de *C. varia* captadas por colector en la Ría de Ares-Betanzos permitiría el desarrollo de una industria de acuicultura en la zona de estudio.

Predadores

- En los colectores de ambas zonas se registró asentamiento de especies predadores: las principales son la estrella de mar *Asterias rubens*, y los crustáceos decápodos *Liocarcinus spp*, *Pilumnus hirtellus* y *Cancer pagurus*. El erizo *Psammechinus miliaris* ha sido descrito como posible predador. En Aldán la incidencia de los predadores fue baja, mientras que en Ares-Betanzos la presencia de la estrella de mar condiciona la estrategia de fondeo de colectores.
- En Ares-Betanzos la estrella de mar *Asterias rubens* muestra mayor asentamiento en las series de colectores de principio de temporada, disminuyendo su fijación a principios de junio durante los años 2007 y 2008, y a finales de julio, durante el año 2009. Los valores máximos de asentamiento de este predador se obtienen entre mediados de mayo y finales de junio. La presencia de *A. rubens* en los colectores fondeados en el año 2008, con valores máximos a finales del mes de abril, está asociada a una disminución en el número de semilla de *C. varia* que llega a ser total en algunos colectores.
- El erizo *P. miliaris* muestra el mismo patrón de asentamiento que la estrella de mar durante los años 2007-2009, obteniéndose valores máximos de asentamiento entre finales de abril y finales de junio. No hemos confirmado que esta especie sea predadora de la semilla captada en los colectores.
- Los predadores pueden ser eliminados con facilidad en el momento del despegue. A partir de este momento no constituyen un problema, ya que el nuevo reclutamiento de predadores tendrá lugar al año siguiente, cuando la talla de los pectínidos es suficiente para impedir que se alimenten de ellos.



7 –Estudio morfológico de las postlarvas y juveniles de los pectínidos captados en las rías gallegas

ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LAS POSTLARVAS Y JUVENILES DE LOS PECTÍNIDOS CAPTADOS EN LAS RÍAS GALLEGAS

7.1 Introducción

7.1.1 Antecedentes

En las rías gallegas se encuentran diferentes especies de pectínidos, tres de los cuales tienen interés comercial: la zamburiña (*Chlamys varia*), la volandeira (*Aequipecten opercularis*) y la vieira (*Pecten maximus*) (Xunta de Galicia, 2008). Este estudio pretende demostrar que la captación de semilla de pectínidos del medio natural mediante el empleo de colectores artificiales puede constituir un método de suministro de semilla viable para el cultivo de los pectínidos en nuestras rías y que estos moluscos constituyen una alternativa que permitiría diversificar la acuicultura de bivalvos en las rías gallegas de forma sostenible.

Para el desarrollo de la pectinicultura partiendo de semilla natural es necesario encontrar un criterio para la identificación específica de los primeros estadios de desarrollo ya que suele haber fijación simultánea de semilla de las distintas especies (Morizur, 1977). Es preciso realizar análisis periódicos de los colectores, para estimar la captación de semilla de las distintas especies, evaluar las necesidades de material, planificar las operaciones de despegue y si es necesario eliminar los predadores que puedan haberse asentado simultáneamente en los colectores (Sause *et al.*, 1987; Thouzeau, 1991b; Iglesias *et al.*, 2010). Dado que estos análisis se realizan sobre colectores que llevan de 4 a 8 semanas sumergidos, la semilla presente es de pequeño tamaño, a veces simplemente postlarvas. Sin embargo, ya que la mayor parte de los estadios larvarios jóvenes en los moluscos bivalvos son muy similares durante su desarrollo temprano (Fig. 7.1.) resulta muy complicada su identificación empleando criterios morfológicos en base a la comparación de los organismos con dibujos, fotografías u individuos conservados de colecciones existentes (Hendriks *et al.*, 2005; Slater, 2005).

Los estudios taxonómicos de los primeros estadios de desarrollo de los pectínidos basados en su morfología son muy escasos. Hardy & Walford (1994), Hardy (1991, 2006) y Cragg & Crisp (1991) realizan descripciones generales de varias especies y una revisión de los estudios realizados hasta el momento sobre las larvas y postlarvas de los pectínidos, mostrando en algunos casos descripciones de los pectínidos en función de diversas áreas geográficas. Morizur (1977) diferencia los juveniles de *C. varia* y *A. opercularis* captados en la Bahía de Brest-Francia. Peña *et al.* (1998) describen las características ultraestructurales de la semilla de los pectínidos captados en la costa de Castellón. Por otro lado, Slater (2005) realiza una detallada descripción fotográfica de las semillas de *P. maximus* de tamaños que van desde las 90 μm hasta las 550 μm .

7.1.2 Estadios de desarrollo en los pectínidos

La larva es un estado de desarrollo que abarca desde la eclosión de la membrana primaria del huevo hasta la metamorfosis y que difiere del adulto en morfología, nutrición y/o hábitat en el que vive (Hickman, 1999) (Fig. 7.1.). En la mayoría de los pectínidos es una fase de vida pelágica que tiene una duración de 3 a 5 semanas (Román *et al.*, 1985). Según Bayne (1965) el crecimiento y desarrollo larvario en los bivalvos es un proceso

plástico, en el cual la temperatura, el alimento y el estado fisiológico de las larvas, son fundamentales para determinar la duración de la vida planctónica.

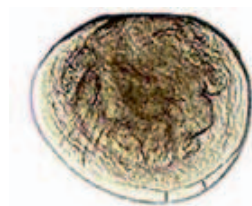


Fig. 7.1. Estadío larvario de un pectínido.

La fijación se produce cuando las larvas pediveliger, que presentan pie y biso, después de alcanzar la competencia, buscan un sustrato adecuado, que reconocen y recorren reptando, se adhieren al sustrato y a continuación se produce la metamorfosis. Este proceso tiene lugar cuando las larvas alcanzan un tamaño de 220-250 μm (Uriarte, 2008), siendo el momento óptimo para realizar la captación de las larvas en el medio natural mediante la colocación de colectores. La fijación produce una disminución de la materia orgánica de la larva, principalmente de las proteínas y los lípidos (Farias *et al.*, 1998), la desaparición del velo y la disminución de la tasa de filtración del alimento (Abarca & Castilla, 1997). El proceso de asentamiento incluye también cambios en el comportamiento de las larvas, ya que éstas descienden de la zona planctónica a la bentónica, donde tiene lugar la fijación debido al comportamiento geotáctico positivo y fototrópico negativo que presentan las larvas competentes de los pectínidos (Bayne, 1964b; De la Roche *et al.*, 2005). En los pectínidos, la fijación, sucede por medio de una estructura proteica denominada “biso” (Uriarte *et al.*, 2002), que es secretada por la glándula bisal y que normalmente se pierde poco tiempo después del asentamiento.

A continuación se produce la metamorfosis, que consiste en una serie de cambios morfológicos y fisiológicos que ponen fin a la vida pelágica, se pierde la movilidad y se reorganiza todo el cuerpo del animal. Por un lado, desaparecen algunas estructuras y por otro aparecen nuevas que perdurarán durante toda su vida adulta. La metamorfosis es una fase en general muy crítica en la que ocurren grandes mortalidades (Freites *et al.*, 2008), ya que durante esta fase, la larva no se alimenta y depende de las reservas energéticas almacenadas previamente.

El término postlarva se emplea para denominar el estadío comprendido entre la larva planctónica y el juvenil y se da en la fase del desarrollo inmediatamente tras la fijación y la metamorfosis (Fig. 7.2.). En esta fase comienza la secreción de la disoconcha o concha definitiva en el borde marginal de la prodisoconcha II (Pérez Camacho & Román, 1987), caracterizando este estadío por la presencia de un doble anillo en la periferia de la prodisoconcha (Gerard *et al.*, 1989). Según el criterio clásico empleado en hatchery, se alcanza este estadío cuando la semilla queda retenida en un tamiz de 150 μm . Es necesario tener muy en cuenta en esta fase que las postlarvas de los pectínidos todavía no poseen unas conchas muy fuertes, como ocurre en los venéridos y ostréidos, por lo que su manipulación debe ser cuidadosa para evitar la fracturación de los ejemplares (Uriarte *et al.*, 2002). La disoconcha comienza a crecer en la valva izquierda y posteriormente en la derecha (Bourne & Hodgson, 1991) y la ornamentación de las valvas es un factor que diferencia a cada una de las especies.

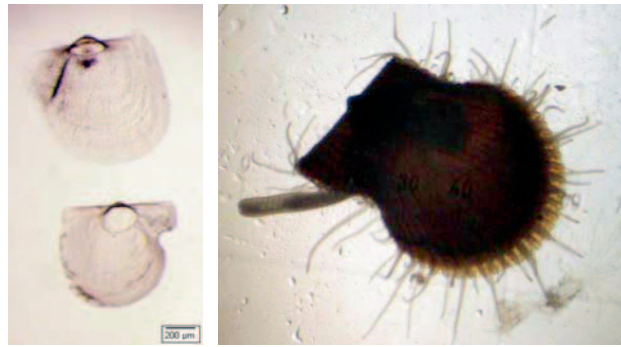


Fig. 7.2. Estadío postlarvario de un pectínido.

Posteriormente se pasa a la fase juvenil (Fig. 7.3.), en la que se hace más notable la hendidura bisal con sus dientes característicos y se forma la charnela definitiva (Bourne & Hodgson, 1991), dejan de formarse ornamentaciones valvares y comienzan a desarrollarse costillas radiales sobre la superficie de las valvas. El estadío juvenil tiene las características de un adulto, excepto que no presenta gónada desarrollada.

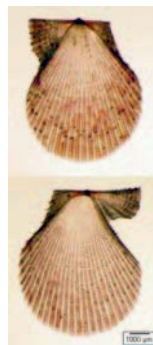


Fig. 7.3. Estadío juvenil de un pectínido.

Durante los estadíos de postlarva y juvenil tiene lugar el principal desarrollo fisiológico y anatómico de los pectínidos, por lo que son estadíos muy frágiles y vulnerables. Por medio de un crecimiento progresivo del juvenil se alcanza definitivamente el estadío adulto.

En los pectínidos la fase de larva es pelágica o planctónica, mientras que las fases de postlarva, juvenil y adulto son fases de vida bentónicas (Fig. 7.4.).

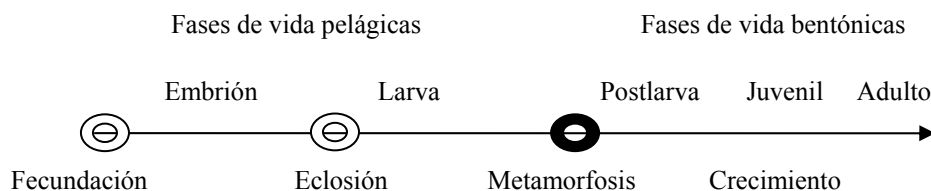


Fig 7.4. Fases de vida, estadíos de desarrollo y procesos biológicos evolutivos en la Familia *Pectinidae*.

En este trabajo se realiza una descripción exhaustiva de la evolución de los diferentes estados de desarrollo a partir del estadío de postlarva de los pectínidos captados mediante colectores en las rías gallegas.

7.1.3 Evolución de la estructura valvar durante el desarrollo

En la concha larvaria de los pectínidos se pueden diferenciar la prodisoconcha I segregada por la glándula de la concha y la prodisoconcha II segregada por el borde del manto. La prodisoconcha I es la primera concha en aparecer, recubre a la larva veliger, presenta forma de “D” y carece de líneas concéntricas de crecimiento (Fig. 7.5.a); la prodisoconcha II se forma a continuación de la anterior y se caracteriza por presentar líneas concéntricas (Belapatiño, 2007) (Fig. 7.5.b).

Después de la metamorfosis aparece la disoconcha (Fig 7.5.b), que es una valva irregular concéntrica que comienza a secretarse en la valva izquierda, continua por la derecha y que forma por último la hendidura bisal, lo que conlleva la formación de las aurículas de la valva (Uribe, 2008). En la disoconcha se puede diferenciar una fase de desarrollo inicial prerradial en la valva izquierda, mostrando microesculturas que permiten la diferenciación entre especies. Esta fase varía de tamaño entre especies, pero según la bibliografía no llega a superar los 5 mm.

La prodisoconcha se separa de la disoconcha en las postlarvas mediante una marca concéntrica bien definida, llamada “línea de metamorfosis” o doble anillo (Fig 7.5.b), que corresponde al momento en el que la larva se asienta en el fondo y sufre los cambios anatómicos derivados de este proceso (Waller, 1991; Robert & Gérard, 1999). La aparición de la línea de metamorfosis es la que marca el inicio de la etapa postlarval.

Por lo tanto, las larvas metamorfoseadas o postlarvas poseen una concha valvar completa (prodisoconcha I y II) y comienzan a formar la frágil disoconcha en ambas valvas, así como la hendidura bisal en la valva derecha (Fig 7.5.c). Tanto la prodisoconcha como la disoconcha están formadas por carbonato cálcico (Puyana & Velasco, 2008), pero se diferencian por estar cristalizado en forma de aragonito en la concha larvaria y en forma de calcita en la concha definitiva (Waller, 1991).

Una característica común de las especies de pectínidos son las postlarvas inequivalvas, donde la valva izquierda es más grande que la derecha y carece de hendidura bisal, únicamente presente en la región anterior de la valva derecha, en la que puede observarse el ctenolium una serie de dientes característicos de cada especie (Bellolio *et al.*, 1994). Además, la textura externa de la disoconcha es diferente en ambas valvas (Bellolio *et al.*, 1994).

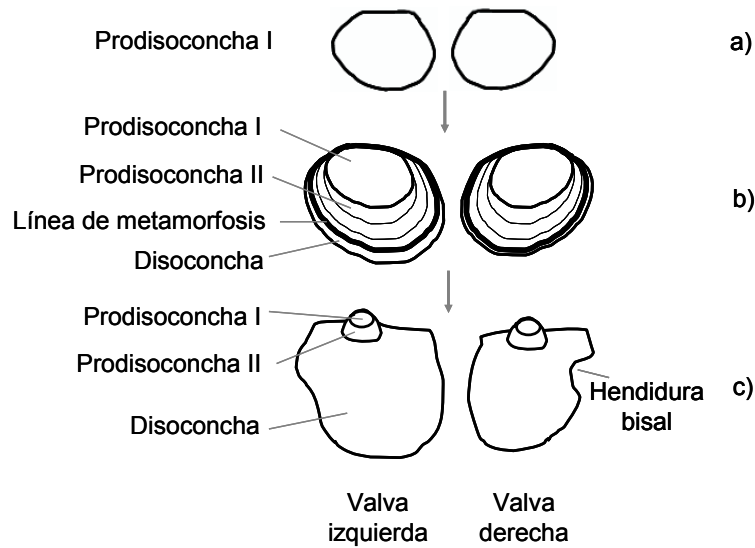


Fig. 7.5. Esquema del desarrollo valvar en los pectínidos.

La información que existe sobre la identificación de pectínidos durante los primeros estadios de desarrollo es muy limitada y restringida a unas pocas especies con interés comercial. Además, todos los trabajos de identificación de postlarvas emplean microscopía electrónica y características ultraestructurales, lo que hace inviable la identificación rutinaria de las diferentes especies de pectínidos captadas mediante colectores, que debe ser rápida, sencilla y barata. En las costas gallegas este es el primer estudio que describe la evolución morfológica de los pectínidos durante las fases de postlarva y juvenil.

Los métodos de identificación taxonómica basados en las características morfológicas están tradicionalmente asociados a cierta subjetividad y especialización; sin embargo, una secuencia de fotografías estereomicroscópicas de las postlarvas y los juveniles de los pectínidos gallegos, acompañada con una breve descripción de los detalles más importantes a tener en cuenta en los diferentes estadios, puede facilitar y agilizar en gran medida la identificación de estos estadios de desarrollo en las muestras procedentes del medio natural. Si además se aporta una sencilla clave de identificación, el proceso puede simplificarse en gran medida, y permitiría identificar el mayor número de moluscos en el menor tiempo posible.

7.2 Material y métodos

7.2.1 Material biológico

El estudio descriptivo de las postlarvas y juveniles de los pectínidos gallegos se realizó empleando ejemplares procedentes del medio natural obtenidos mediante la técnica de colocación de colectores artificiales. El material biológico se recogió en muestreos que se llevaron a cabo en Aldán-Ría de Pontevedra durante los años 2007-2008, en la Ría de Ares-Betanzos durante los años 2007-2009.

Tras el fondeo de colectores para la captación de semilla de pectínidos, se realizaron controles periódicos para la obtención de muestras de colectores destinadas a la identificación, al recuento y a la posterior medición de las postlarvas y juveniles de las distintas especies de pectínidos capturados.

7.2.2 Procesado de las muestras

Se seleccionó aquella semilla clasificada previamente por talla y especie procedente de colectores, que fue fijada con formaldehído, posteriormente tamizada utilizando tamices de 250 μm de diámetro de malla y conservada para estudios posteriores en etanol al 70 %. Este tamizado permitió obtener las semillas que ya han realizado la metamorfosis y en las cuales la presencia de aurículas comienza a hacerse patente (Hardy & Walford, 1994).

Las aurículas (junto con el ctenolium y el resilium) son las principales características morfológicas que identifican a los pectínidos (Fig. 7.6.). Se trata de prolongaciones laterales de la concha, que se localizan en el margen dorsal dispuestas a ambos lados del umbo y cuyo desarrollo es rápido durante las fases siguientes al asentamiento. En estadios más tempranos del desarrollo las larvas de los bivalvos son muy semejantes y es muy difícil distinguir los pectínidos de otros bivalvos como los mitílidos (Le Pennec, 1974).

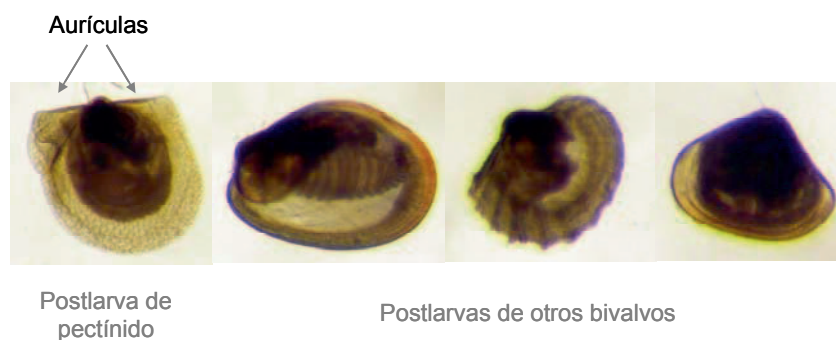
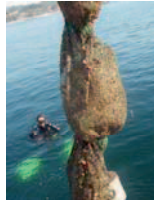


Fig. 7.6. Diferenciación entre las postlarvas de un pectínido y de otros bivalvos.

Posteriormente, siguiendo la técnica de separación de las valvas descrita por Pérez-Camacho & Román (1973) y Domínguez & Alcaraz (1983), se procedió a la digestión de la materia orgánica de las semillas con tallas comprendidas entre los 0,4 y los 13 mm de altura de la concha, sumergiendo a los ejemplares en hipoclorito sódico comercial al 50% durante 20 minutos.

A continuación, se realizaron lavados seriados de la semilla con agua destilada empleando para ello una micropipeta, para evitar así la rotura o degradación de sus finas valvas.

Finalmente, las semillas de los distintos pectínidos fueron observadas bajo un estereomicroscópico Leica MZ8 y fotografiadas con una cámara Leica D-lux 3 acoplada. Las medidas se llevaron a cabo empleando un transportador angular y utilizando el programa Olympus Dp-Soft Versión 3.2.



Toma de muestras mediante colectores



Fijación con formaldehído al 4 %

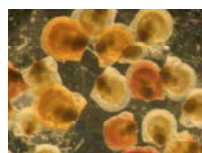


Transporte al laboratorio (menos de 24h)

Tamizado por 250 μm de diámetro de malla



Conservación en etanol al 70 %



Identificación, recuento y talla

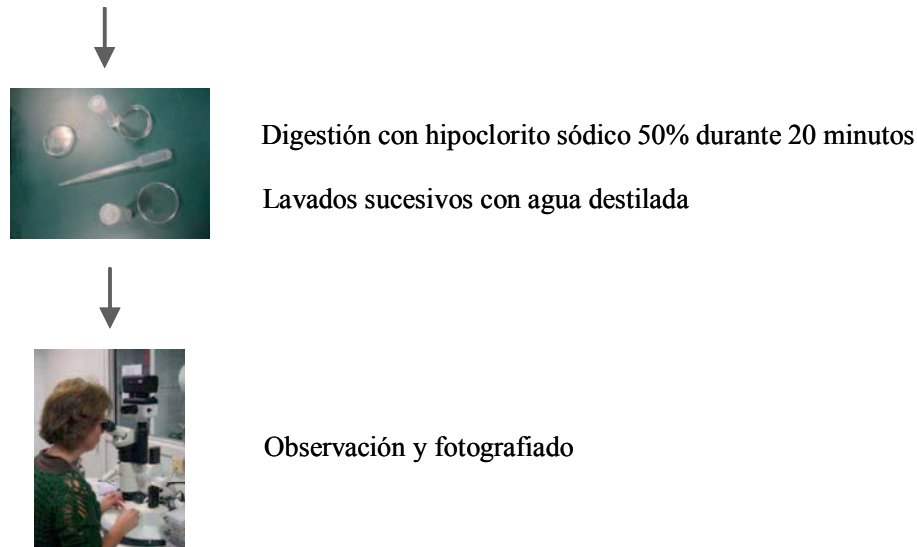


Fig. 7.7. Procesado de las muestras para el estudio taxonómico de las postlarvas y juveniles de los pectínidos gallegos.

7.2.3 Descripción de las postlarvas y juveniles

El proceso de clasificación y descripción de las postlarvas y juveniles de los pectínidos fijados, se basó en las diferencias estructurales de las valvas en relación con su grado de desarrollo.

Para describir la anatomía externa de la concha se han tenido en cuenta las siguientes características:

- La relación entre la altura dorso-ventral y la longitud antero-posterior de la valva izquierda.
- La diferencia entre la altura de la valva izquierda y la altura de la valva derecha.
- La transparencia y color de las valvas.
- La visibilidad de las líneas de crecimiento concéntricas.
- La longitud y simetría de las aurículas en la valva izquierda.
- El ángulo que forma la aurícula posterior izquierda respecto al margen dorsal de la valva.
- La forma, talla y distribución de las ornamentaciones localizadas en la fase pre-radial (entre la línea de metamorfosis y las estrías radiales) de la valva izquierda, así como el momento en el que desaparecen.
- La evolución del nivel de abultamiento o convexidad de las valvas.
- El desarrollo progresivo de la hendidura bisal.
- El número de dientes formados en la hendidura bisal.
- La formación y abundancia de estrías y costillas sobre la superficie valvar.

Todas estas características van modificándose de forma progresiva a medida que aumenta la talla/edad del individuo. Por tal motivo, en este trabajo se ha definido para cada una de las valvas analizadas, en función de la talla, la terminología descrita en las Figuras 7.8. y 7.9.

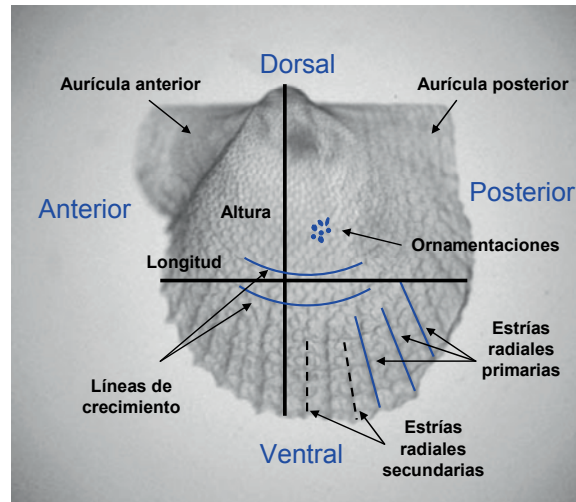


Fig. 7.8. Terminología utilizada para describir las características morfológicas en la valva izquierda de las postlarvas y juveniles de los pectínidos.

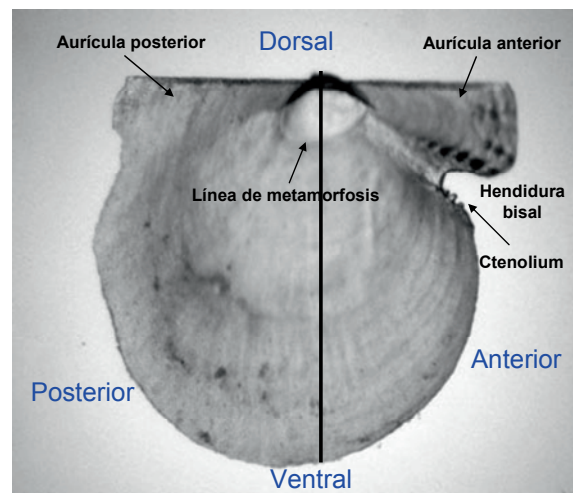


Fig. 7.9. Terminología utilizada para describir las características morfológicas de la valva derecha de las postlarvas y juveniles de los pectínidos.

Con los datos aportados en este estudio definiremos por primera vez la evolución de estas características específicas de las postlarvas y juveniles de las distintas especies de pectínidos de las rías gallegas, con relación a diferentes tallas.

7.3 Resultados

7.3.1 Identificación de la semilla

Mediante el empleo de colectores localizados en las rías gallegas durante el periodo 2007-2009 se capturaron diferentes especies de pectínidos, incluyendo aquellas de interés comercial como: *Chlamys varia*, *Aequipecten opercularis* y *Pecten maximus* (zamburiña, volandeira y vieira respectivamente), así como otras especies de menor tamaño sin interés comercial: *Hinnites distorta* y *Palliolum incomparabile*.

- Una de las características más relevantes para la identificación de la semilla de pectínidos captada mediante colectores en las rías gallegas es la relación entre la altura y la longitud de la valva izquierda. Esta característica ha mostrado diferencias entre las distintas especies. La valva izquierda de *P. maximus* presenta mayor longitud que altura. Por el contrario, en las demás especies, la altura de la valva izquierda es mayor que la longitud. Esta relación es más notable en el caso de *C. varia*, seguida de la especie *H. distorta*, mientras que *A. opercularis* muestra valores intermedios (Fig. 7.10.).

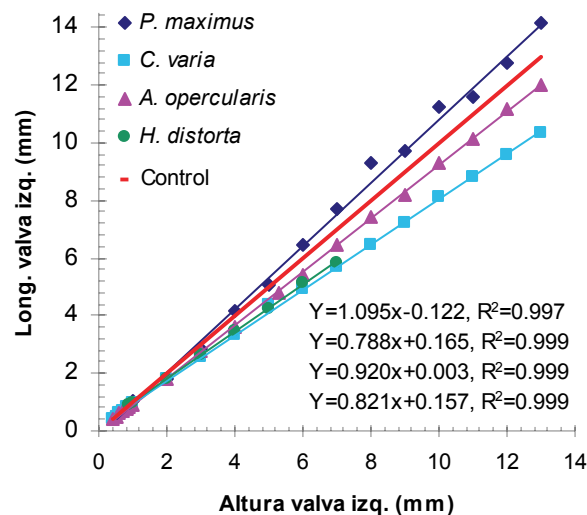


Fig. 7.10. Relación entre la altura y la longitud de la valva izquierda. La recta control correspondería a valvas en las que la altura y la longitud fuesen iguales.

- La relación entre la altura de la valva izquierda y la altura de la valva derecha es lineal e igual en todas las especies, por lo que no es una característica diferenciadora en la identificación de las postlarvas y juveniles de los pectínidos capturados (Fig. 7.11.).

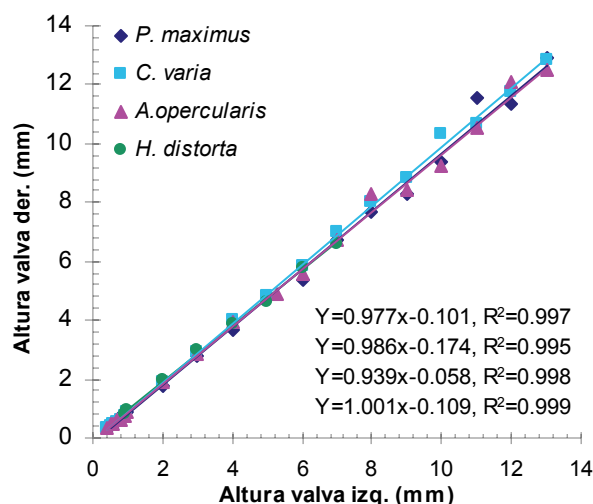


Fig. 7.11. Relación entre la altura de la valva izquierda y la altura de la valva derecha.

Sin embargo, se ha observado que esta relación disminuye a medida que se desarrolla la semilla hasta estabilizarse con valores próximos a 1 a partir de los 2 mm de altura de la valva izquierda (Fig. 7.12.). Este hecho demuestra que en los pectínidos estudiados la altura de la valva izquierda es superior a la altura de la valva derecha durante los primeros estadios postlarvares, pero con el desarrollo ambas alturas tienden a igualarse.

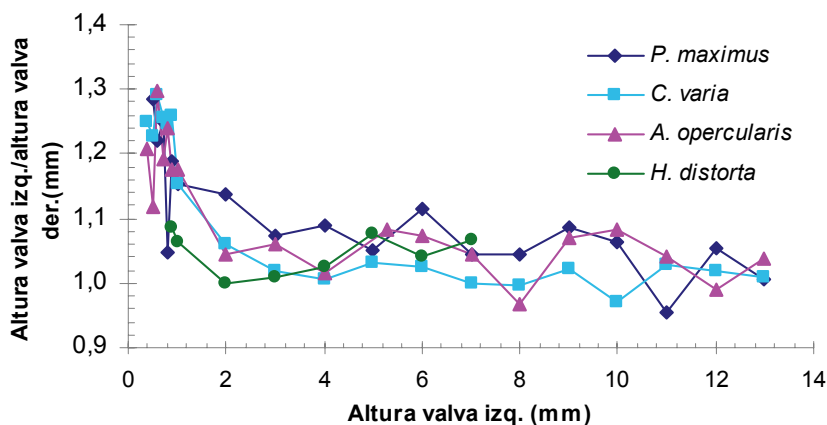


Fig. 7.12. Relación entre la altura de la valva izquierda y la altura de la valva derecha en función de la altura de la valva izquierda.

- Otra de las características empleadas en la identificación de las postlarvas y juveniles de los pectínidos es la transparencia y color de las valvas. Se ha observado que *P. maximus* presenta una concha muy translúcida. Por el contrario, la concha de *A. opercularis* es muy opaca, mientras que las valvas de *C. varia* e *H. distorta* presentan valores intermedios de opacidad.

Además, las postlarvas de *P. maximus* presentan con frecuencia manchas de color marrón en ambas valvas, que discurren de manera discontinua desde los bordes de las conchas hasta el umbo. Estas manchas presentan mayor grosor y discontinuidad en la valva derecha. El color de las valvas se oscurece de manera progresiva, adquiriendo un color pardo bastante homogéneo en los juveniles y siendo más oscuro en la valva izquierda que en la derecha.

En la especie *C. varia* abundan las postlarvas coloreadas, normalmente rojizas, que en ocasiones son muy brillantes. El color de las postlarvas pierde progresivamente su brillo y se oscurece, manteniéndose en los juveniles una predominancia de los tonos rojizos y un color bastante uniforme, aunque en ocasiones presentan distintos patrones de color.

El color de las valvas de *A. opercularis* también tiende progresivamente a oscurecerse, pero presenta un patrón de color variable, con frecuencia marrón-parduzco con diferentes matices claros. La valva izquierda es normalmente más oscura que la derecha.

En *H. distorta* son comunes las postlarvas coloreadas rojizas. El color de las valvas se oscurece de forma progresiva, presentando en los juveniles distintos patrones de color, que combinan con frecuencia tonos marrón-parduzcos con tonos más claros.

- Las líneas de crecimiento concéntricas se observan con claridad en las especies *P. maximus*, *C. varia* e *H. distorta* en ambas valvas en todos los ejemplares capturados (desde 0,5 mm de altura en el caso de *P. maximus*, 0,4 mm en *C. varia* y 0,9 mm en *H. distorta*), siendo más patentes en la valva izquierda. *H. distorta* presenta líneas de crecimiento muy marcadas y con relieve (elevadas), *P. maximus* finas líneas de crecimiento y en *C. varia* se observa una situación intermedia. Sin embargo, en *A. opercularis* las líneas de crecimiento concéntricas no se diferencian fácilmente, ya que son poco patentes con tallas inferiores a los 2 mm de altura de la concha. Al alcanzar dicha altura, comienzan a diferenciarse en ambas valvas, apareciendo superpuestas sobre las costillas radiales.

- Respecto a la longitud y simetría de las aurículas en la valva izquierda, se comprobó que la variación de la longitud de la aurícula anterior izquierda en relación a la altura de la valva izquierda es muy semejante en las distintas especies, por lo que no puede emplearse como característica diferencial. Sin embargo, se observaron diferencias en la evolución de la longitud de la aurícula posterior izquierda en relación a la altura de la valva izquierda, obteniéndose valores más elevados en la especie *P. maximus*, intermedios en *A. opercularis* y menores en *C. varia* e *H. distorta* (Fig. 7.13.).

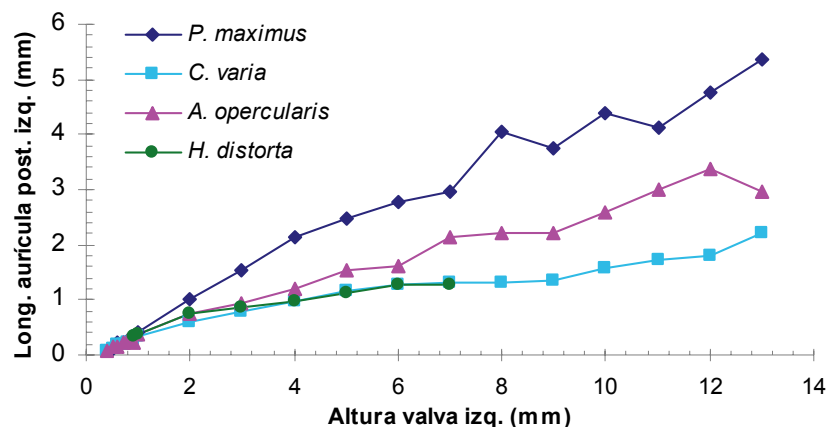


Fig. 7.13. Relación entre la longitud de la aurícula posterior izquierda y la altura de la valva izquierda.

Además, la evolución de la relación entre la longitud de la aurícula anterior izquierda y la longitud de la aurícula posterior izquierda en función de la altura de la valva izquierda en *P. maximus* es inferior a 1, lo que indica que en las postlarvas y juveniles de vieira la aurícula anterior izquierda es inferior a la posterior. En la especie *A. opercularis* los valores están próximos o ligeramente por encima de 1, y tanto en *C. varia* como en *H.*

distorta superan este valor, mostrando una mayor longitud de la aurícula anterior (Fig. 7.14.).

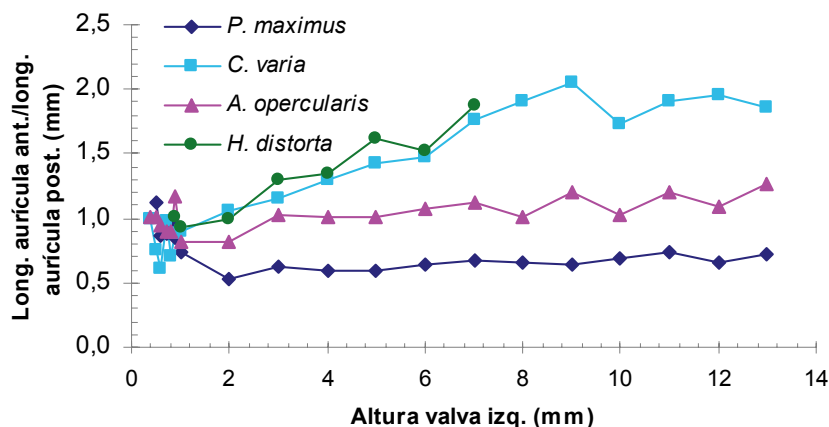


Fig. 7.14. Relación entre la longitud de la aurícula anterior izquierda y la longitud de la aurícula posterior izquierda en función de la altura de la valva izquierda.

- Otra diferencia a destacar es el ángulo que forma la aurícula posterior izquierda respecto al margen dorsal de la valva. En el caso de *P. maximus* describe un ángulo recto, en *A. opercularis* e *H. distorta* varía entre los 90-105° y en *C. varia* describe un ángulo obtuso de 105-115° (Fig. 7.15.).

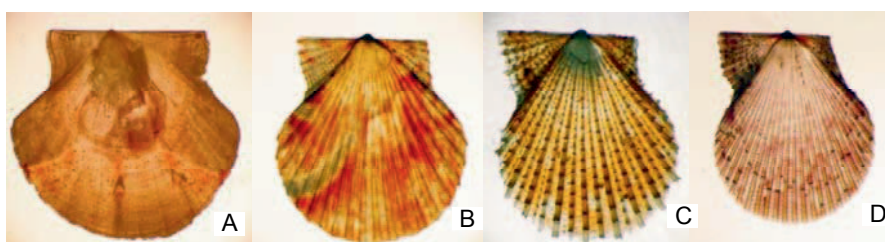


Fig. 7.15. Ángulo que forma la aurícula posterior izquierda respecto al margen dorsal de la valva. A) *P. maximus*, B) *A. opercularis*, C) *H. distorta*, D) *C. varia*.

- Existen también diferencias interespecíficas en la forma, talla y distribución de las ornamentaciones localizadas en la fase prerradial de la valva izquierda, así como en el momento en el que desaparecen.

Las ornamentaciones presentes en la valva izquierda de *P. maximus* son surcos de muy pequeña dimensión con forma redondeada, que se sitúan separados entre sí. Los surcos miden $0,05 \pm 0,01$ mm y desaparecen cuando la altura de la concha alcanza aproximadamente 7 mm (Fig. 7.20.).

En *C. varia* se pueden observar microesculturas muy numerosas en forma de surcos lineales cortos dispuestos de forma radial, combinadas de forma irregular con algún surco redondeado. Los surcos miden $0,02 \pm 0,001$ mm y desaparecen con una altura de la concha de aproximadamente 3 mm (Fig. 7.23.).

Las ornamentaciones de *A. opercularis* son normalmente surcos circulares, pero también pueden ser triangulares e irregulares y se sitúan separados entre sí. Los surcos pueden presentar diferentes tallas, que se van alternando a lo largo de la valva, aunque las ornamentaciones de mayores dimensiones tienden a situarse hacia los bordes de la con-

cha. Los surcos miden $0,01 \pm 0,002$ mm y desaparecen en esta especie con una altura de la concha aproximada a los 3 mm (Fig. 7.26.).

En la especie *H. distorta* las microesculturas forman un enrejado de surcos y elevaciones lineales cortas dispuestas de forma radial, que se superponen entre sí. Los surcos miden $0,05 \pm 0,01$ mm y dejan de observarse en esta especie cuando la altura de la concha alcanza aproximadamente los 3 mm (Fig. 7.28.).

- La evolución del nivel de abultamiento o convexidad de las valvas durante el desarrollo es diferente en las distintas especies estudiadas. En *P. maximus* mientras la valva izquierda se mantiene más o menos plana, la derecha va adquiriendo cierta convexidad, mientras que en *C. varia* e *H. distorta* ambas valvas adquieren convexidad y en *A. opercularis* aunque las dos valvas van adquiriendo cierto grado de convexidad, ésta es mayor en la valva izquierda.

- La hendidura bisal aparece en el margen posterior de la valva derecha de los pectínidos al inicio del estadio de postlarva y va adquiriendo profundidad durante el desarrollo. La longitud del extremo superior angular de la hendidura bisal tiende a ser mayor en *C. varia* e *H. distorta*, los valores de *A. opercularis* son intermedios a partir de los 9 mm de altura y *P. maximus* presenta una hendidura bisal menos profunda (Fig. 7.16.).

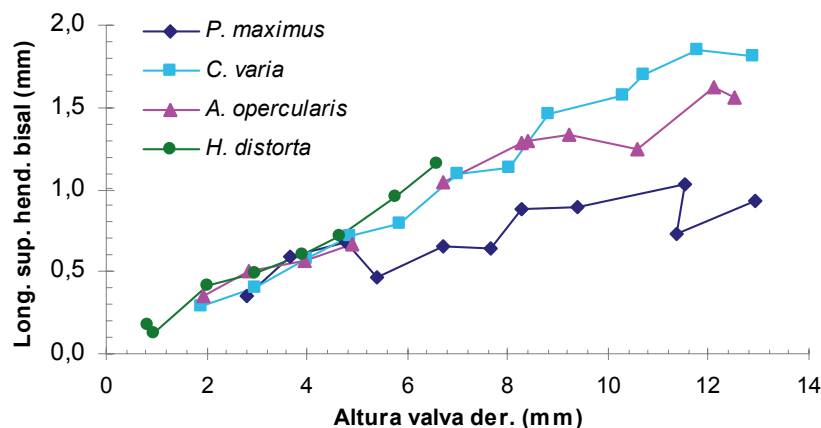


Fig. 7.16. Relación entre la longitud superior de la hendidura bisal y la altura de la valva derecha en los pectínidos estudiados.

La amplitud de la hendidura bisal, es decir, el ángulo que forma dicha hendidura, también varía entre especies. En el juvenil de *P. maximus* llega a formar ángulos de hasta 70° , en *H. distorta* de $50-55^\circ$, en *C. varia* se observan ángulos de $40-50^\circ$ y en *A. opercularis* el ángulo que forma la hendidura bisal varía entre los 35° y los 45° .

- El número de dientes formados en la hendidura bisal es otra de las características diferenciales entre pectínidos, sin embargo en las especies estudiadas no se observan grandes diferencias que permitan una clasificación inequívoca.

A partir de los 3 mm de altura se puede apreciar el ctenolium en *P. maximus* compuesto por 3-4 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de menor tamaño (5-10 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha, dicha dentición comienza a reducirse a partir de los 11 mm de altura de la concha.

En *C. varia* comienza a observarse a partir de los 2 mm de altura y está compuesto por 3-5 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de menor tamaño (3-10 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha.

A partir de 1 mm de altura de la concha empieza a diferenciarse el ctenolium en *A. opercularis*, compuesto por 3-4 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de menor tamaño (5-12 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha.

En *H. distorta* el ctenolium se observa a partir de los 2 mm de altura de la concha y esta compuesto por 3-6 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de menor tamaño (4-12 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha.

- Se observan importantes diferencias en la formación y abundancia de costillas y espinas sobre la superficie valvar.

En *P. maximus* la altura de la concha en la que dejan de observarse las ornamentaciones valvares es la misma que la altura con la que comienzan a formarse las costillas radiales, es decir, 7 mm. Se observan entre 15 y 17 costillas radiales anchas y elevadas, que parten de los bordes de las valvas hacia el umbo. En las demás especies la formación de las costillas radiales es anterior.

En la especie *C. varia*, con una altura de la concha de 2 mm todavía pueden observarse las ornamentaciones valvares, al mismo tiempo que comienzan a formarse entre 25 y 35 costillas radiales redondeadas y elevadas. Estas costillas incluyen las costillas radiales primarias, que son las primeras que se forman, y las costillas radiales secundarias, que aparecen más tarde entre las costillas primarias. En ocasiones las costillas radiales pueden desarrollar espinas dispuestas de forma desigual, que son especialmente notables en los márgenes de las valvas.

Al igual que en *C. varia*, en *A. opercularis* de 2 mm de altura de la concha, todavía pueden observarse las ornamentaciones valvares y al mismo tiempo empiezan a formarse las costillas radiales. Se pueden ya diferenciar de 19-22 costillas radiales elevadas (suma de las costillas primarias y las secundarias), que parten de los bordes de las valvas hacia el umbo, dejando en el espacio intercostal 2 filas de ornamentaciones irregulares, que con frecuencia se fusionan en una única fila.

En *H. distorta*, cuando los individuos alcanzan los 3 mm de altura de concha, dejan de observarse las ornamentaciones valvares. Sin embargo, las costillas radiales comienzan su formación desde los ejemplares de menor talla muestreados, es decir, 0,9 mm de altura de la concha. Se forman numerosas costillas radiales elevadas en los bordes de las valvas (12-35 como número total de costillas, contando tanto las primarias como las secundarias). Al mismo tiempo, se van desarrollando espinas muy abundantes y prominentes, dispuestas de forma desigual a lo largo de toda la superficie costal.

La anchura de las costillas difiere también entre especies, alcanzando mayor anchura en la especie *P. maximus*, seguida de *A. opercularis* e *H. distorta*, mientras *C. varia* presenta las costillas de menor anchura (Fig. 7.17.). Este hecho determina que los pectínicos con costillas más anchas presenten los bordes de la concha ondulados y afilados.

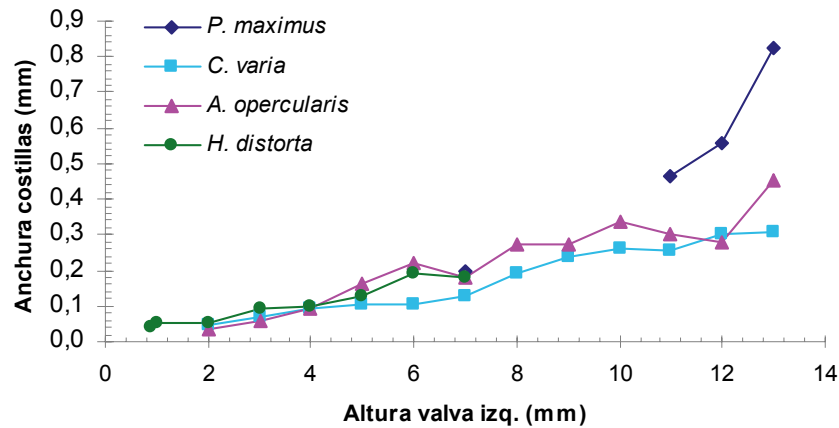


Fig. 7.17. Relación entre la anchura de las costillas valvares y la altura de la valva izquierda en los pectí-nidos estudiados.

Palliolum incomparabile

- Únicamente se encontraron 3 ejemplares, con tallas comprendidas entre 2 y 4,8 mm.
- Esta especie posee una concha ligeramente alargada en sentido dorso-ventral, pero más ancha en el margen ventral.
- La altura de la valva izquierda es muy semejante a la altura de la valva derecha, siendo la relación igual a $1 \pm 0,04$ mm.
- Una característica diferencial de esta especie es que la concha es muy translúcida, especialmente en los bordes. El patrón del color valvar presenta tonos marrón-parduzcos y tonos más claros, con frecuencia formando gruesas líneas desde los bordes de la concha hacia el umbo.
- Se pueden distinguir las líneas de crecimiento concéntricas, que en esta especie son muy finas y más patentes en la valva izquierda.
- En el margen dorsal de las valvas se desarrollan grandes aurículas desiguales, siendo mayor la aurícula anterior izquierda que la posterior. La aurícula posterior izquierda describe un ángulo obtuso de 115° respecto al margen dorsal.
- Esta especie presenta ornamentaciones que forman un fino enrejado lineal con relieve a lo largo de toda la superficie valvar, mostrando finas líneas radiales entrecruzadas con las líneas concéntricas a modo de cuadrículas. En los puntos de unión de las líneas, se atisban pequeños surcos con forma de “V” invertida. El número medio de estrías radiales por mm de concha es de $25,33 \pm 2,4$ y el de líneas concéntricas de $20,67 \pm 2,91$ (Fig. 7.32.).
- En los ejemplares de 3 y 4,8 mm de altura de la concha se observa el ctenolium, que está compuesto por 3 dientes en la hendidura bisal que continúan con una dentición de menor tamaño (aproximadamente 12 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha.

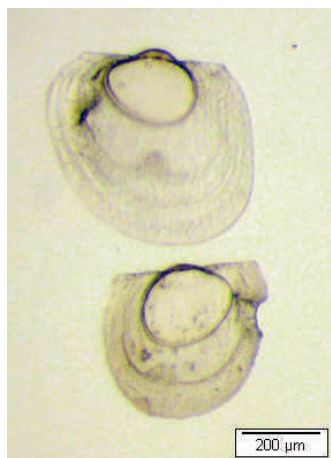
- No presenta costillas radiales. En el juvenil se continúa observando el fino enrejado de líneas radiales y concéntricas en toda la superficie valvar.

7.3.2 Descripción gráfica de los distintos estadios de desarrollo de las especies de pectínidos captados en las rías gallegas

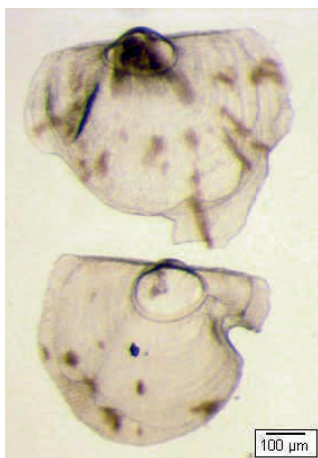
Con el fin de poder identificar de forma gráfica las semillas de los pectínidos gallegos, a continuación se expone una secuencia completa de fotografías de los estadios de postlarva y juvenil de las cinco especies descritas (Figs. 7.18. - 7.32.).

En el caso de las especies más abundantes como *Pecten maximus*, *Chlamys varia* o *Aequipecten opercularis*, fueron fotografiados ejemplares entre los 0,4-0,5 mm hasta los 13 mm de altura de la concha. Los rangos correspondientes a la especie *Hinnites distorta* fueron fotografiados entre los 0,9 mm y los 7 mm de altura de la concha, y para la especie menos común, *Palliolum incomparabile* entre los 2 mm y los 4,8 mm de altura. El intervalo de altura entre fotografías fue de 0,1 mm en las semillas menores de 1 mm de altura de la concha, debido a que su identificación presenta mayor dificultad, y de 1 mm a partir de esa talla.

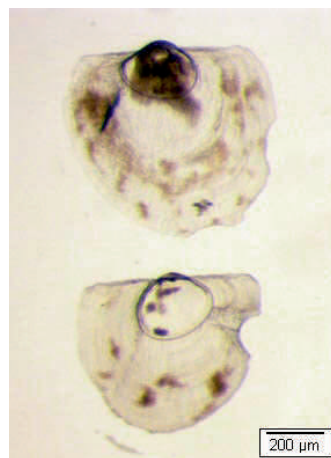
Pecten maximus



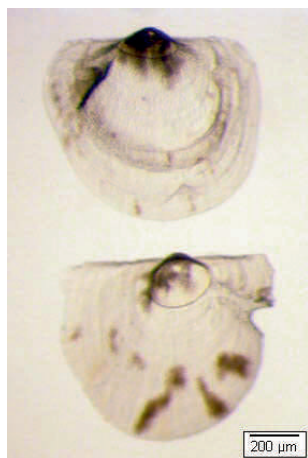
0,5 mm



0,6 mm



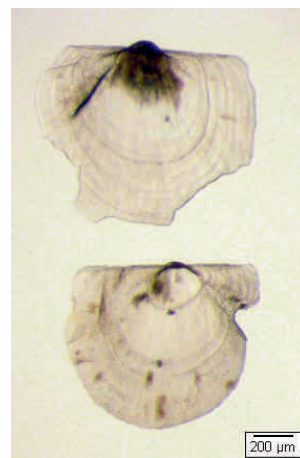
0,7 mm



0,8 mm



0,9 mm



1 mm



Fig. 7.18. Fotografías de los estadios de postlarva y juvenil en *Pecten maximus*.



Fig. 7.19. Desarrollo del ctenolium durante los estadios de postlarva y juvenil en *Pecten maximus*.

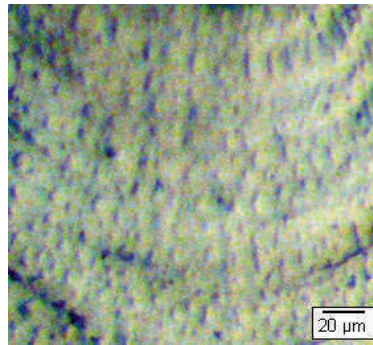
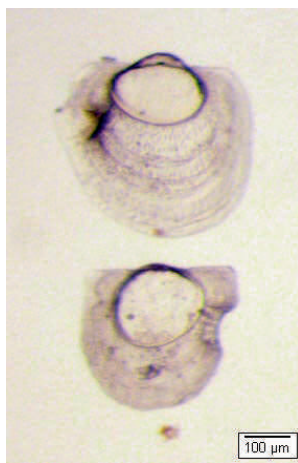


Fig. 7.20. Ornamentaciones de la valva izquierda en las postlarvas de *Pecten maximus*.

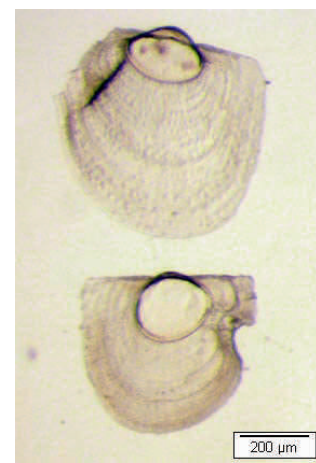
Chlamys varia



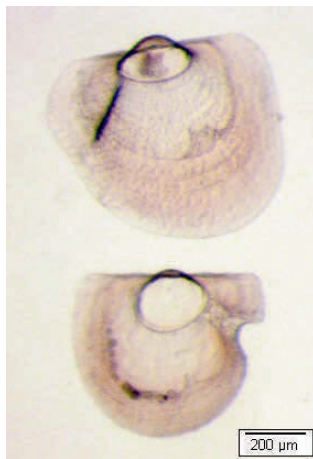
0,4 mm



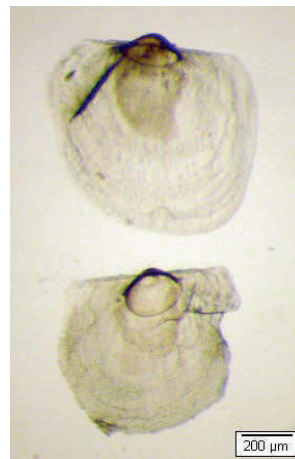
0,5 mm



0,6 mm



0,7 mm



0,8 mm



0,9 mm



Fig. 7.21. Fotografías de los estadios de postlarva y juvenil en *Chlamys varia*.

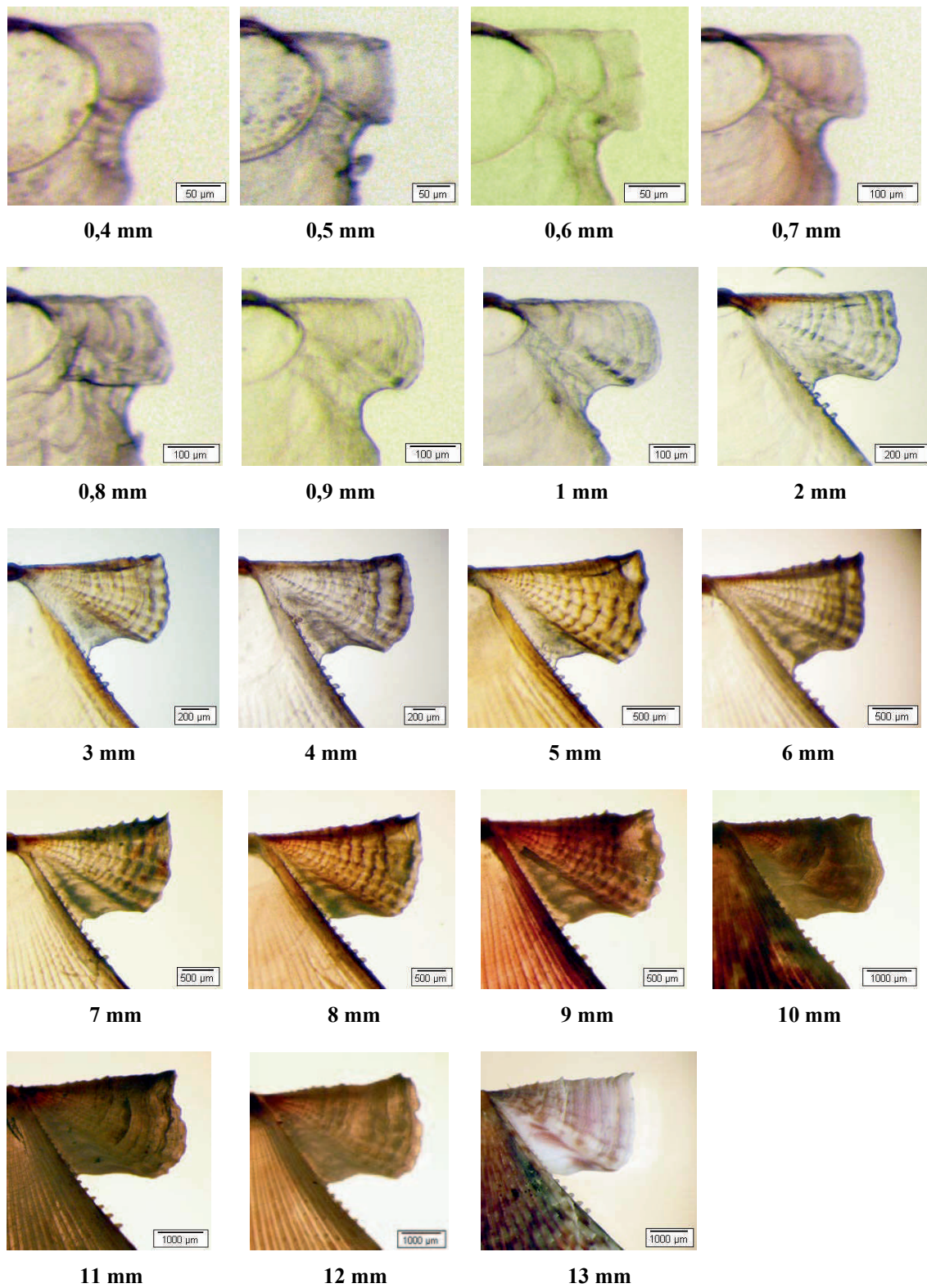


Fig. 7.22. Desarrollo del ctenolium durante los estadios de postlarva y juvenil en *Chlamys varia*.

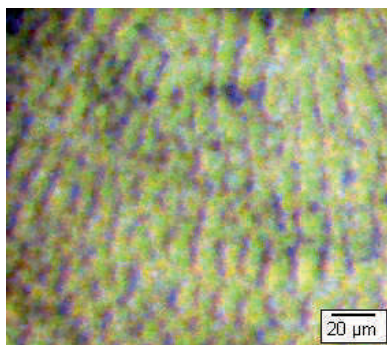
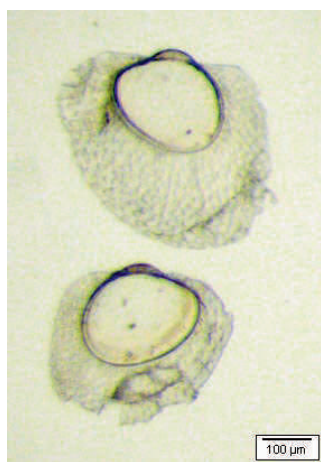
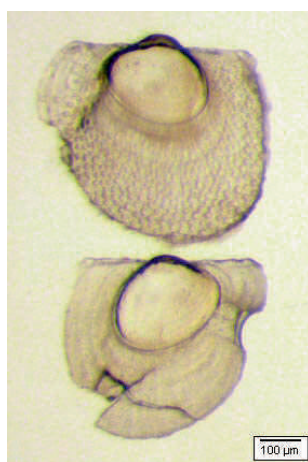


Fig. 7.23. Ornamentaciones de la valva izquierda en las postlarvas de *Chlamys varia*.

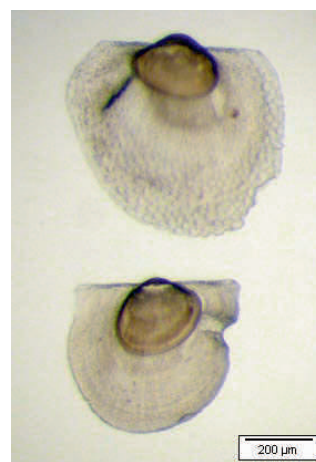
Aequipecten opercularis



0,4 mm



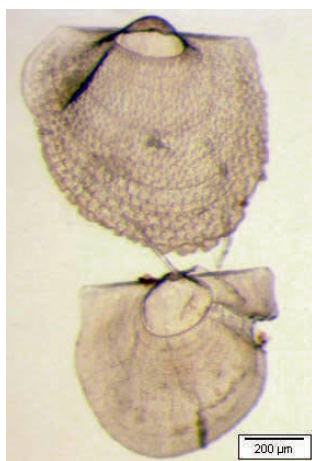
0,5 mm



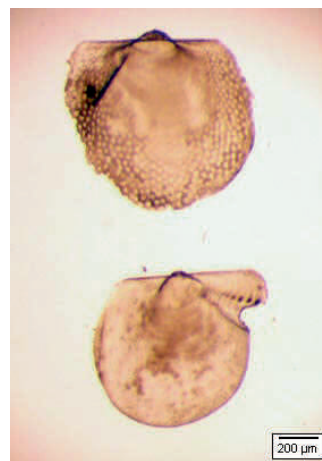
0,6 mm



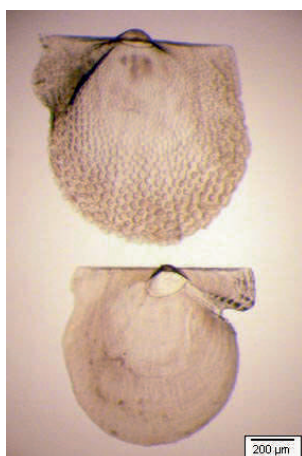
0,7 mm



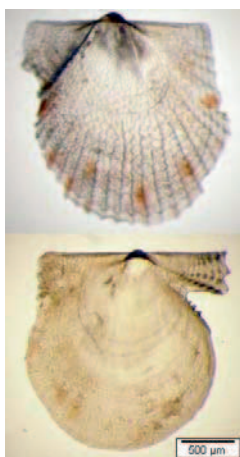
0,8 mm



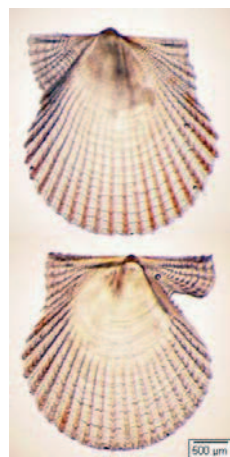
0,9 mm



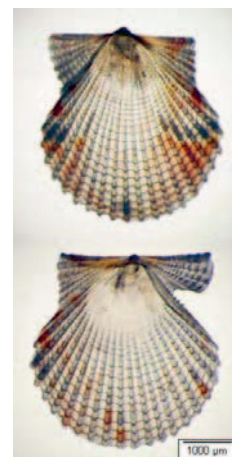
1 mm



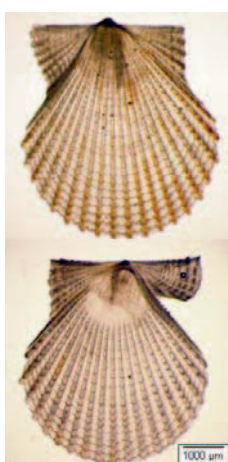
2 mm



3 mm



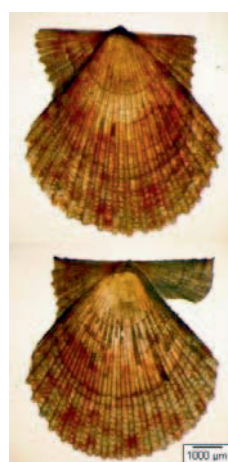
4 mm



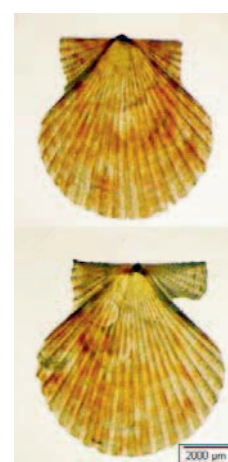
5,3 mm



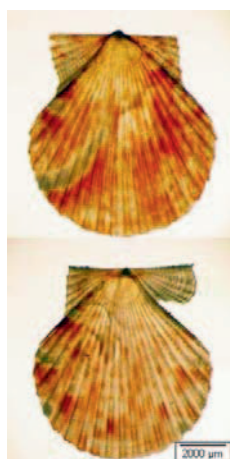
6 mm



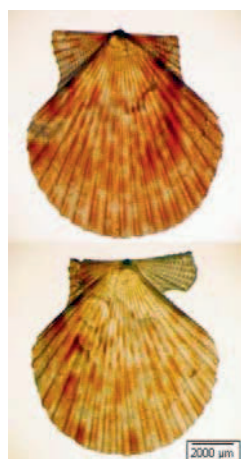
7 mm



8 mm



9 mm



10 mm



11 mm

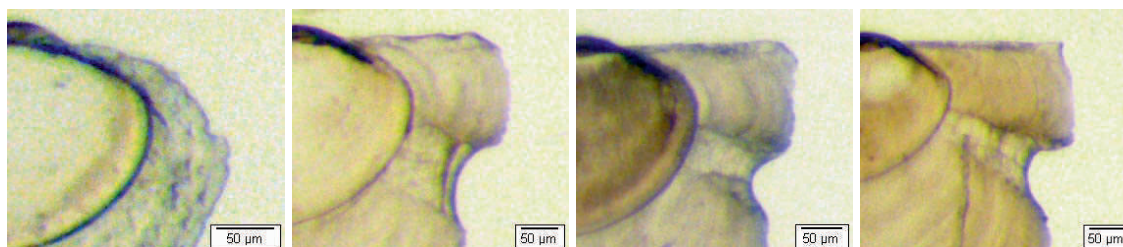


12 mm



13 mm

Fig. 7.24. Fotografías de los estadios de postlarva y juvenil en *Aequipecten opercularis*.

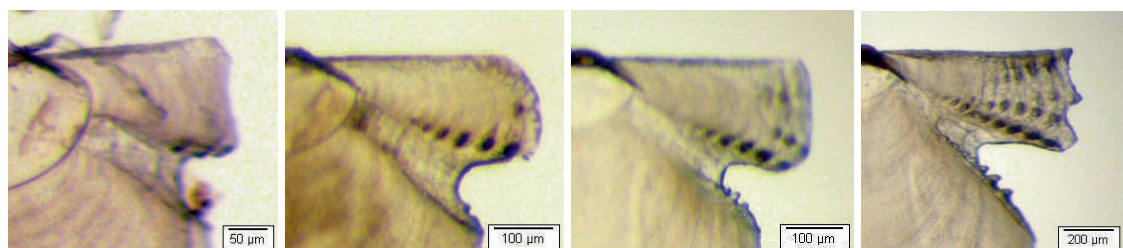


0,4 mm

0,5 mm

0,6 mm

0,7 mm

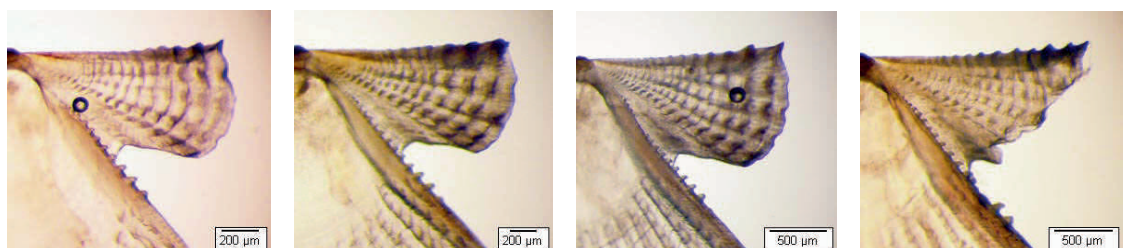


0,8 mm

0,9 mm

1 mm

2 mm

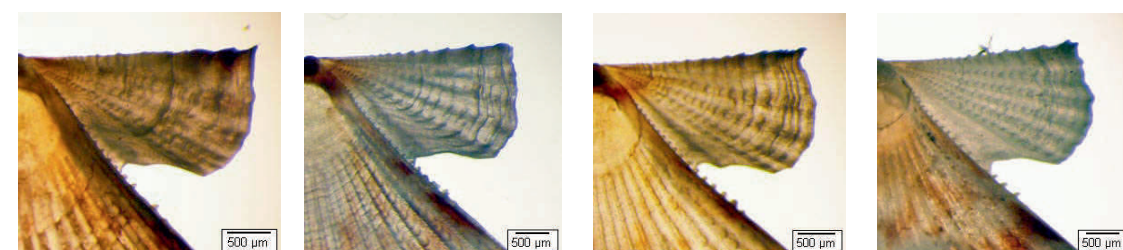


3 mm

4 mm

5,3 mm

6 mm



7 mm

8 mm

9 mm

10 mm

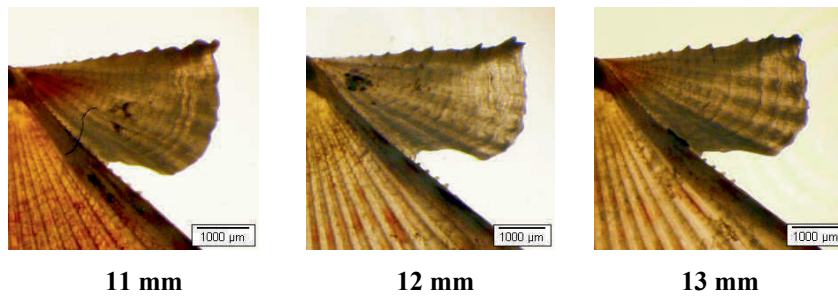


Fig. 7.25. Desarrollo del ctenolium durante los estadios de postlarva y juvenil en *Aequipecten opercularis*.

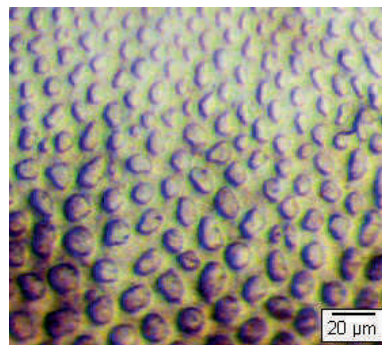
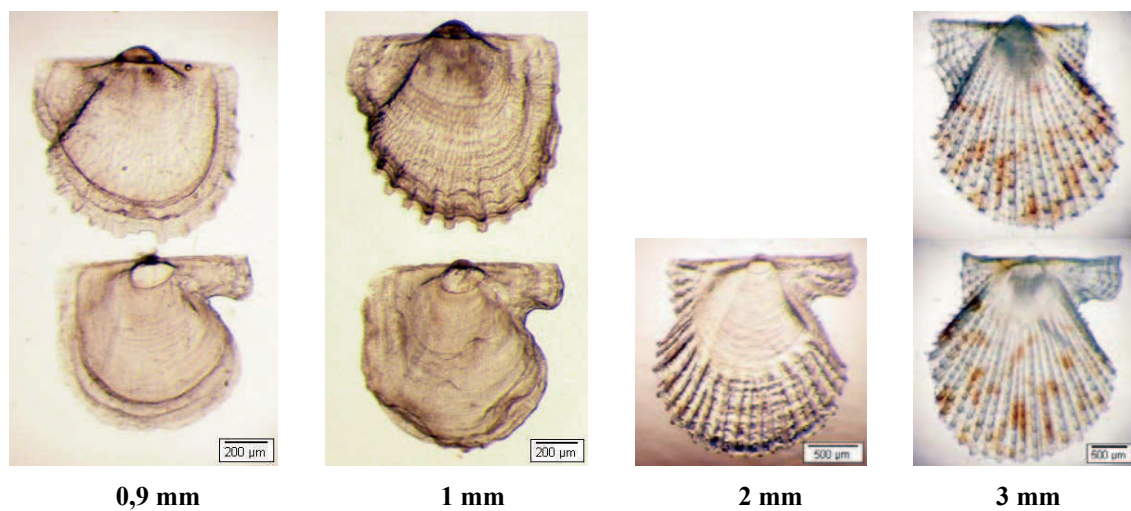


Fig. 7.26. Ornamentaciones de la valva izquierda en las postlarvas de *Aequipecten opercularis*.

Hinnites distorta



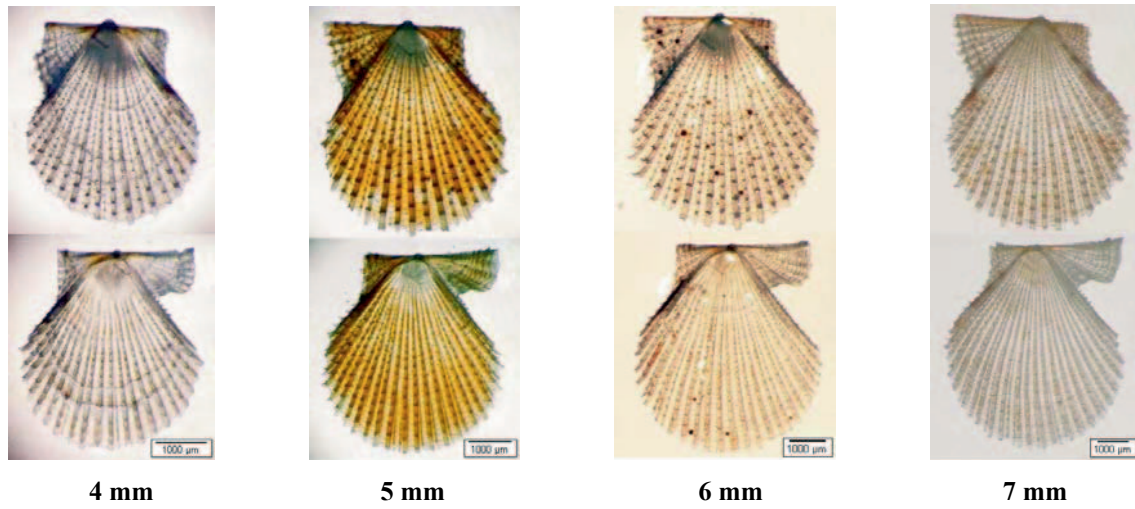


Fig. 7.27. Fotografías de los estadios de postlarva y juvenil en *Hinnites distorta*.

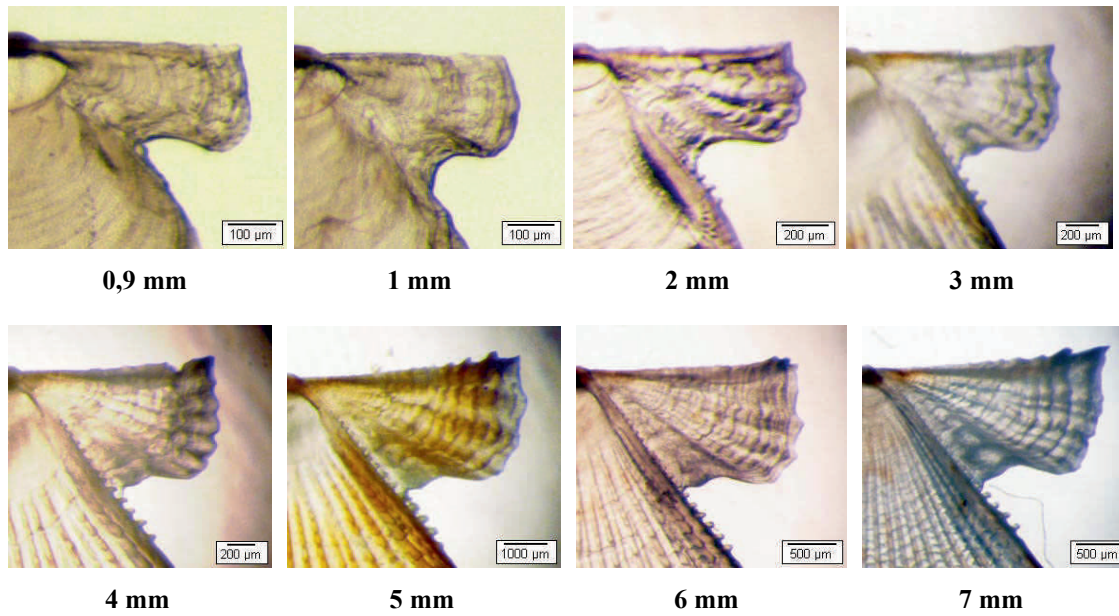


Fig. 7.28. Desarrollo del ctenolium durante los estadios de postlarva y juvenil en *Hinnites distorta*.

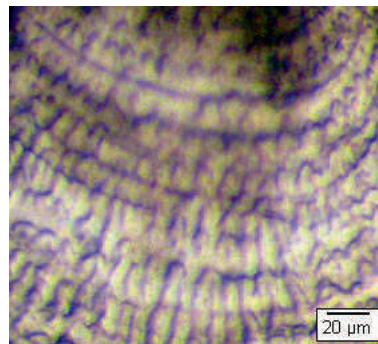


Fig. 7.29. Ornamentaciones de la valva izquierda en las postlarvas de *Hinnites distorta*.

Palliolum incomparabile

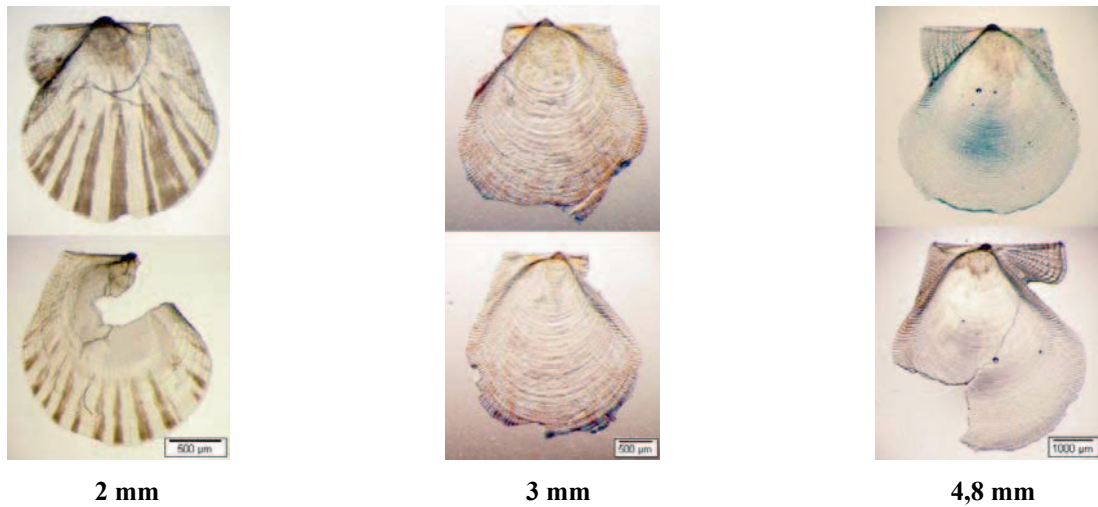


Fig. 7.30. Fotografías de los estadios de postlarva y juvenil en *Palliolum incomparabile*.

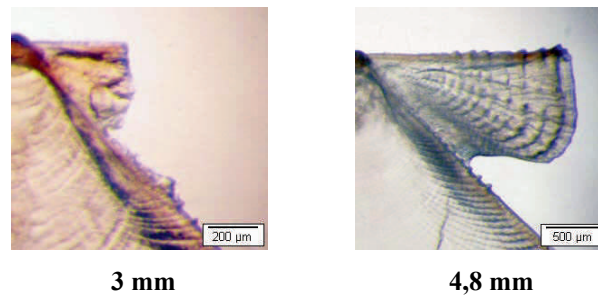


Fig. 7.31. Desarrollo del ctenolium durante los estadios de postlarva y juvenil en *Palliolum incomparabile*.

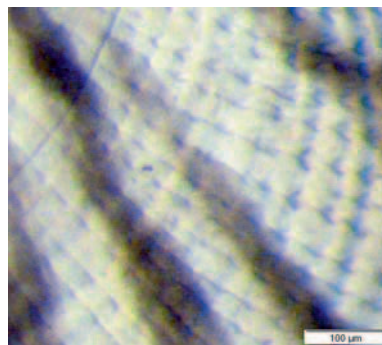


Fig. 7.32. Ornamentaciones de la valva izquierda en las postlarvas de *Palliolum incomparabile*.

Tras describir detalladamente las postlarvas y juveniles de las especies de pectínidos captadas en las rías gallegas y de mostrar las fotografías correspondientes a dichos estadios, el paso siguiente consistió en elaborar una clave simplificada para la identificación rutinaria de estos moluscos.

Para la realización de dicha clave se seleccionaron aquellas características que permitiesen diferenciar a las cinco especies de pectínidos gallegos captados. Las principales características empleadas fueron: la relación entre la altura y longitud de la valva izquierda, las ornamentaciones valvares y las costillas radiales. Para asegurar la correcta clasificación de la semilla también se describieron: la transparencia y color de las valvas, la visibilidad de las líneas de crecimiento, la longitud y simetría de las aurículas en la valva izquierda, el ángulo que forma la aurícula posterior izquierda respecto al margen dorsal de la valva, la convexidad de las valvas, la hendidura bisal y el ctenolium.

7.3.3 Clave de identificación de los pectínidos captados en las rías gallegas

1. Valva izquierda con mayor longitud que altura. Postlarvas con concha muy translúcida que con frecuencia presentan manchas marrones discontinuas desde los bordes de la concha hasta el umbo. Finas líneas de crecimiento patentes. Aurícula posterior izquierda progresivamente de mayor longitud que la anterior y formando un ángulo recto respecto al margen dorsal.

Semilla menor de 7 mm de altura con ornamentaciones valvares a modo de pequeños surcos circulares. Valva izquierda plana mientras que la valva derecha adquiere gradualmente convexidad. Hendidura bisal muy amplia, pero poco profunda. Con 3-4 dientes en la hendidura bisal y 5-10 dientes menores.

Semilla superior a 7 mm con 15-17 costillas radiales anchas (Figs. 7.33.a, 7.34.a y 7.34.b).....*Pecten maximus* Linnaeus, 1758

— Valva izquierda con mayor altura que longitud (Fig. 7.33.b).....2

2. Semilla menor de 3 mm de altura.....3

— Semilla mayor de 3 mm de altura.....6

3. Con ornamentaciones valvares a modo de surcos lineales cortos con presencia de algún surco circular (Fig. 7.35.a). Postlarvas frecuentemente rojizas, en ocasiones muy brillantes. Líneas de crecimiento patentes. Valvas convexas.....*Chlamys varia* Linnaeus, 1758

— Sin estas características.....4

4. Con ornamentaciones valvares a modo de surcos circulares con presencia de algunos surcos triangulares o irregulares (Fig. 7.35.b). Concha muy opaca que muestra distintos patrones de color, con frecuencia marrón-parduzcos. Líneas de crecimiento patentes a partir de 2 mm de altura. Convexidad de ambas valvas, gradualmente mayor en la izquierda.....*Aequipecten opercularis* (Linnaeus, 1758)

— Sin estas características.....5

5. Con ornamentaciones valvares a modo de enrejado de surcos y elevaciones superpuestas (Fig. 7.35.c). Postlarvas rojizas. Líneas de crecimiento muy marcadas y con relieve. Valvas convexas.....*Hinnites distorta* (da Costa, 1778)

— Con ornamentaciones valvares formando un enrejado de líneas radiales y concéntricas a modo de cuadrícula y surcos con forma de “v” invertida en las uniones

lineales (Fig. 7.35.d). Concha más ancha en el margen ventral y muy translúcida, que muestra distintos patrones de color marrón-parduzcos con frecuencia formando gruesas líneas desde los bordes de la concha hacia el umbo. Finas líneas de crecimiento.....*Palliolum incomparabile* (Risso, 1826)

6. Con ornamentaciones valvares formando un finísimo enrejado de líneas radiales y concéntricas a modo de cuadrícula (Fig. 7.36.a). Concha más ancha en el margen ventral. Longitud de la aurícula anterior izquierda superior a la posterior, esta última formando un ángulo de 115° respecto al margen dorsal. Con 3 dientes en la hendidura bisal y 12 dientes menores.....*Palliolum incomparabile* (Risso, 1826)

— Sin estas características.....7

7. Con 25-35 costillas radiales redondeadas, en ocasiones desarrolla espinas que son más notables en los bordes de las valvas (Fig. 7.36.b). Longitud de la aurícula anterior izquierda superior a la posterior, esta última formando un ángulo de 105-115° respecto al margen dorsal. Hendidura bisal de amplitud reducida pero profunda. Con 3-5 dientes en la hendidura bisal y 3-10 dientes menores.....*Chlamys varia* Linnaeus, 1758

— Sin estas características.....8

8. Con 12-35 costillas radiales, con abundantes espinas prominentes dispuestas a lo largo de toda la superficie costal (Fig. 7.36.c). Longitud de la aurícula anterior izquierda superior a la posterior, esta última formando un ángulo de 90-105° respecto al margen dorsal. Hendidura bisal amplia y profunda. Con 3-6 dientes en la hendidura bisal y 4-12 dientes menores.....*Hinnites distorta* (da Costa, 1778)

— Con 19-22 costillas radiales y sin espinas (Fig. 7.36.d). Longitud de la aurícula anterior izquierda similar a la posterior, esta última formando un ángulo de 90-105° respecto al margen dorsal. Hendidura bisal profunda pero de reducida amplitud. Con 3-4 dientes en la hendidura bisal y 5-12 dientes menores.....*Aequipecten opercularis* (Linnaeus, 1758)

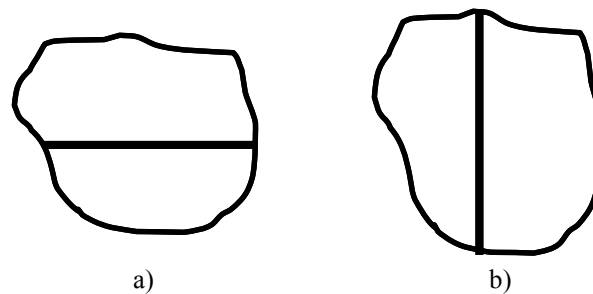


Fig. 7.33. Valva izquierda. a) Mayor longitud que altura, b) mayor altura que longitud.

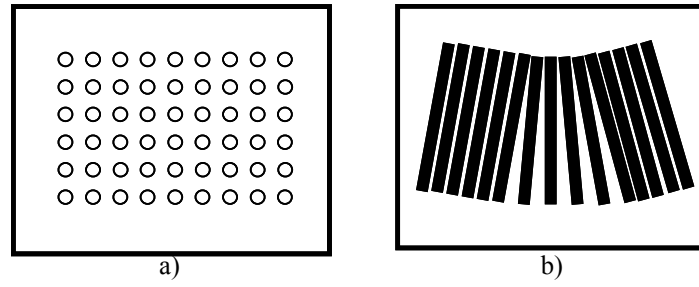


Fig. 7.34. a) Ornamentaciones que presentan las semillas menores de 7 mm en *Pecten maximus* y b) costillas radiales en la semillas mayores de 7 mm de *Pecten maximus*.

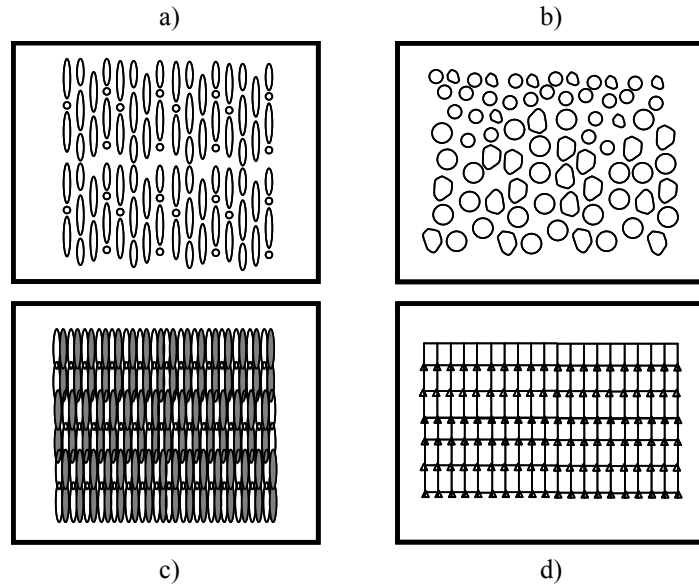


Fig. 7.35. Ornamentaciones que presentan las semillas menores de 3 mm a) *Chlamys varia*, b) *Aequipecten opercularis* c) *Hinnites distorta* d) *Palliolum incomparabile*.

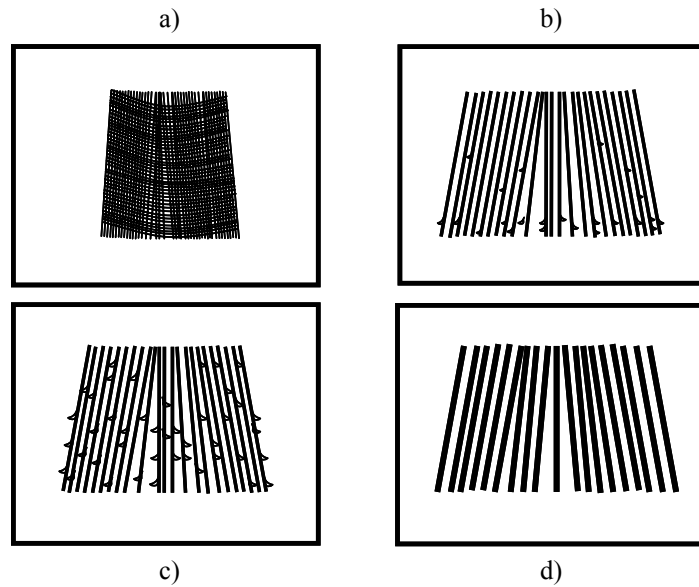


Fig. 7.36. Ornamentaciones y costillas radiales presentes en las semillas mayores de 3 mm. a) Ornamentaciones de *Palliolum incomparabile*, b) costillas radiales de *Chlamys varia*, c) costillas radiales de *Hinnites distorta* y d) costillas radiales de *Aequipecten opercularis*.

7.4 Discusión

Los rasgos morfológicos diferenciales más destacados de las postlarvas y juveniles de las distintas especies de pectínidos observados en las rías gallegas se han analizado por separado y comparado con las citas previas existentes en la bibliografía. Se debe destacar que no existen descripciones previas de la semilla de *Hinnites distorta*, probablemente debido a que no presenta interés comercial, y que muestra gran semejanza en sus primeros estadios de desarrollo con la especie *Chlamys varia* (Wagner, 1991). En nuestro caso, la correcta identificación es del mayor interés, ya que puede confundirse fácilmente con *C. varia*, que sí tiene interés comercial y puede llevar a estimas erróneas de la producción obtenida.

La relación entre la altura y la longitud de la valva izquierda es la característica clave para diferenciar las semillas de *Pecten maximus* de los demás pectínidos gallegos. La vieira es la única especie captada mediante colectores que, tanto en los estadios de postlarva como en los juveniles, muestra una concha con mayor longitud que altura, resultado semejante al obtenido por Sasaki (1979) y Slater (2005) para esta misma especie. Además, este resultado es acorde con la concha redondeada descrita para los ejemplares adultos de *P. maximus* por Rolán & Otero-Schmitt (1996), Dance (2002) y Peña (2002). En las demás especies estudiadas, la altura de la valva izquierda es mayor que la longitud. En este estudio se observó que *C. varia* es la especie que presenta una mayor relación altura/longitud de la valva izquierda, tal como había descrito Morizur (1977), y se confirma que la forma de la concha ovalada que describen Rolán & Otero-Schmitt (1996) y Peña (2002) para el estadio adulto también se da en las postlarvas y juveniles de esta especie. Lo mismo ocurre con la semilla de la especie *H. distorta*, que presenta también una alta relación altura/longitud de la valva izquierda y coincide con la descripción de la concha como alargada (Tebble, 2006) u ovalada (Rolán & Otero-Schmitt, 1996) en los ejemplares adultos. Aunque esta concha acabará siendo muy irregular en el adulto al amoldarse al sustrato de fijación (Rolán & Otero-Schmitt, 1996), la forma de las postlarvas y juveniles observada en este estudio de las rías gallegas siempre ha sido regular. En la semilla de *A. opercularis* la altura de la valva izquierda es ligeramente superior a la longitud. Sin embargo, Morizur (1977) señala que estas medidas son semejantes en los juveniles de volandeira captados en Brest (Francia), mientras que Rolán & Otero-Schmitt (1996) o Peña (2002) describen la concha del adulto como redondeada.

Sin ser una característica diferencial entre las especies de pectínidos analizadas, este estudio demuestra que la altura de la valva izquierda es superior a la altura de la valva derecha durante los primeros estadios postlarvarios de los pectínidos gallegos, pero que con el desarrollo ambas alturas tienden a igualarse. Estos resultados son acordes con los obtenidos por Le Pennec (1974) para la especie *P. maximus* y por Shafee (1980) para *C. varia*. También coinciden con Rolán & Otero-Schmitt (1996) en cuanto a que señalan que las dos valvas son casi iguales en los ejemplares adultos de *A. opercularis*, pero no muestran en el caso de *H. distorta* una tendencia destinada a presentar valvas desiguales en el adulto como describen estos autores.

La transparencia de las valvas durante los estadios de postlarva y juvenil también muestra diferencias interespecíficas en los pectínidos captados mediante colectores. Aunque, en el adulto de *P. maximus* la concha es muy sólida (Rolán & Otero-Schmitt, 1996), la semilla de esta especie presenta por el contrario una concha muy traslúcida en comparación con las demás semillas estudiadas, resultado similar al descrito por Hardy & Wal-

ford (1994) y Slater (2005). Las valvas de la semilla de *A. opercularis* son las más fuertes y opacas de los pectínidos captados. Peña & Rodríguez-Babío (2003) describen también la concha de esta especie como fina pero fuerte. Por último, las valvas de la semilla de *C. varia*, al igual que sucede con *H. distorta*, no son traslúcidas, sino que muestran cierta opacidad como indican Peña *et al.* (1998).

Respecto al color de las valvas de *P. maximus*, son frecuentes las postlarvas con manchas radiales discontinuas marrones más gruesas en la valva derecha, pero a medida que se desarrollan, la valva izquierda se oscurece más que la derecha y esta diferencia de color se mantiene en el adulto, tal como señalan Rolán & Otero-Schmitt (1996) y Tebble (2006). En Galicia son frecuentes las postlarvas y los juveniles de *C. varia* rojizos, característica que también observaron en estudios previos Hardy & Walford (1994). Las valvas tienden a oscurecerse durante el desarrollo, lo que coincide con los resultados de Rolán & Otero-Schmitt (1996), que señalan valvas marrones-violáceas oscuras en las poblaciones gallegas de esta especie. Sin embargo, el color de las valvas de *A. opercularis* es muy variable, como describen Ansell *et al.* (1991), Rolán & Otero-Schmitt (1996) o Peña *et al.* (1998). Es necesario destacar que en este estudio se observó que la valva presenta con frecuencia una base marrón-parduzca con diferentes matices claros, predominando un color más oscuro en la valva izquierda. En *H. distorta* son comunes las postlarvas con coloración rojiza, menos brillante que en la zamburiña, mientras que en los juveniles la tendencia es al oscurecimiento. En general, los tonos de coloración son marrón-parduzcos combinados con tonos más claros, semejantes a los descritos en el adulto por Rolán & Otero-Schmitt (1996) y Tebble (2006).

Las líneas de crecimiento concéntricas se distinguen con claridad en las especies *P. maximus*, *C. varia* e *H. distorta* en ambas valvas, siendo más patentes en la valva izquierda. *H. distorta* presenta líneas de crecimiento muy marcadas y con relieve (elevadas), *P. maximus* finas líneas de crecimiento y en *C. varia* se observa una situación intermedia. Diferentes autores confirman la presencia de estas líneas de crecimiento en los ejemplares adultos de *P. maximus* (Pazos, 1993; Dance, 2002) y *C. varia* (Peña, 2002). Sin embargo, en *A. opercularis* las líneas de crecimiento concéntricas no se diferencian fácilmente con tallas inferiores a los 2 mm de altura de la concha, pero si se pueden observar desde el estadio juvenil hasta el adulto (Peña, 2002).

Se observaron también diferencias en la evolución de la longitud de la aurícula posterior izquierda en relación a la altura de la valva izquierda en las semilla estudiadas, obteniéndose valores más elevados en la especie *P. maximus*, intermedios en *A. opercularis* y menores en *C. varia* e *H. distorta*. Además, las postlarvas y juveniles de *P. maximus* presentan aurículas desiguales, mostrando una aurícula posterior izquierda superior a la anterior, a diferencia de lo que ocurre en el resto de los pectínidos. En la semilla de la volandeira la aurícula anterior izquierda es semejante o ligeramente superior a la posterior, tal como señalan Peña *et al.* (1998) o Peña (2002). Y tanto *C. varia* como *H. distorta* muestran aurículas desiguales, pero presenta una mayor longitud la aurícula anterior izquierda que la posterior. En los ejemplares adultos de *C. varia* de las costas gallegas se mantiene esta proporcionalidad en el tamaño de las aurículas (Rolán & Otero-Schmitt, 1996); mientras que por el contrario, según señalan Peña *et al.* (1998), la semilla de *C. varia* de Castellón muestra aurículas de tamaño semejante. La longitud de la aurícula anterior izquierda continuará siendo mayor que la posterior en el adulto de *H. distorta* (Tebble, 2006).

La asimetría de las aurículas es un rasgo morfológico característico de los animales que viven fijados, mientras que la simetría indica una fase de vida libre (Schein, 1989). La simetría auricular parece ser necesaria para que el pectínido se pueda desplazar nadando hacia delante. Sin embargo, el mayor desarrollo de la aurícula anterior supone una ventaja para la fijación del pectínido mediante el biso, actuando como soporte para evitar el vuelco de la concha (Stanley, 1970).

La aurícula posterior izquierda de la semilla de *P. maximus* captada en las rías gallegas describe un ángulo recto respecto al margen dorsal de la valva, el menor de los observados en este estudio. En *A. opercularis* e *H. distorta* varía entre los 90-105° y en *C. varia* describe un ángulo obtuso de 105-115°, siendo recto en las poblaciones de Castellón (Peña *et al.*, 1998).

La forma, talla y distribución de las ornamentaciones localizadas en la fase prerradial de la valva izquierda también varía en las distintas especies de pectínidos, así como el momento en el que desaparecen. Las ornamentaciones de *P. maximus*, son pequeños surcos redondeados separados entre sí, ya descritos previamente por Le Pennec (1982). Además, este autor indica un ligero acampanamiento de los surcos hacia los bordes de la concha al observar los ejemplares mediante microscopía electrónica de barrido. Por el contrario, Hardy & Walford (1994) describen estas ornamentaciones como radiales. Las microesculturas de *C. varia* han sido descritas de diferentes formas por distintos autores: como ornamentaciones de tipo varilla (Morizur, 1977), como surcos superpuestos abiertos hacia el borde ventral (Le Pennec, 1982), a modo de lunares (Hardy & Walford, 1994), como surcos concéntricos en forma de “U”, o con forma de “V” invertida o irregulares (Peña *et al.*, 1998). En este estudio se observaron surcos lineales cortos combinados de forma irregular con algún surco redondeado, hecho que puede llevar a confusión con las ornamentaciones de *A. opercularis*. Al igual que habían observado Le Pennec (1982) y Peña *et al.* (1998) las ornamentaciones de la volandeira son surcos circulares de diferentes tamaños, que Morizur (1977) define como ornamentaciones de tipo alveolar. Además, en este estudio se observa que los surcos se sitúan separados entre sí, que se combinan con otros triangulares o irregulares y que las ornamentaciones de mayor tamaño suelen situarse hacia los bordes de la concha. Las microesculturas de *H. distorta* se encuentran superpuestas y forman un enrejado de surcos y elevaciones lineales cortas, de mayor longitud que los de la especie *C. varia*.

En este estudio se ha observado que la altura de la concha con la que desaparecen las ornamentaciones valvares también es variable entre especies, desapareciendo a los 3 mm de altura en *C. varia*, *A. opercularis* e *H. distorta* y con una altura mucho mayor (7 mm) en *P. maximus*.

Existen diferencias interespecíficas en la evolución de la convexidad valvar durante el desarrollo postlarvario. La valva izquierda de la semilla de *P. maximus* se mantiene casi plana, mientras que la derecha va adquiriendo cierta convexidad, características que se mantienen durante la fase adulta de esta especie (Pazos, 1993; Rolán & Otero-Schmitt, 1996). La evolución de las valvas de la semilla de *C. varia* es gradual y ambas valvas van adquiriendo cierta convexidad, por lo que la semilla de esta especie es equivalva (Peña *et al.*, 1998). En los estadios estudiados en las rías gallegas no se observa una mayor convexidad de una de las valvas. Sin embargo, Shafee (1980) describe que la valva izquierda del adulto es algo más convexa que la derecha. Resultados semejantes se observaron en *H. distorta*, donde la semilla captada en las rías gallegas fue equivalva,

aunque Tebble (2006) indica que la valva izquierda de los adultos es menos convexa. Durante el desarrollo de las postlarvas de *A. opercularis* la valva izquierda adquiere mayor convexidad, resultado que coincide con la descripción realizada por Ansell *et al.* (1991), Rolán & Otero-Schmitt (1996), Dance (2002), Peña (2002) y Peña & Rodríguez-Babío (2003).

En este trabajo además de observar la amplitud de la hendidura bisal como se describe en citas previas, también se ha tenido en cuenta la profundidad de esta estructura. La hendidura bisal de la semilla de *P. maximus* es muy amplia, pero no muestra mucha profundidad si se compara con los demás pectínidos capturados. Peña (2002) describió una importante reducción de esta estructura durante el proceso de desarrollo, hecho contrario al aumento de amplitud experimentado por la vieira captada en las rías gallegas. La hendidura bisal de *H. distorta* es amplia y profunda. Posiblemente la hendidura disminuirá de tamaño al desarrollarse el juvenil, puesto que Tebble (2006) señala que en el adulto presenta un tamaño muy reducido. La semilla de *C. varia* muestra en este estudio una hendidura bisal de reducida amplitud pero profunda respecto a los demás pectínidos gallegos, lo que coincide con lo descrito por Peña *et al.* (1998). Y la hendidura bisal en las postlarvas y juveniles de *A. opercularis* presenta profundidad intermedia y reducida amplitud. Por ello, Peña *et al.* (1998) y Tebble (2006) describen una hendidura bisal estrecha en esta especie.

El número de dientes formados en la hendidura bisal es otra de las características morfológicas de los pectínidos. Sin embargo, no se observaron grandes diferencias en esta característica entre las especies estudiadas. En la semilla de *P. maximus* el ctenolium está compuesto por 3-4 dientes en la hendidura bisal, como ocurre en la *A. opercularis*, que continúan con 5-10 dientes de menor tamaño, los cuales comienzan a reducirse a partir de los 11 mm de altura de la concha hasta desaparecer completamente en la fase adulta tal como señala Peña (2002). En la zamburiña se observó un ctenolium compuesto por 3-5 dientes en la hendidura bisal, que continúan con 3-10 dientes de menor tamaño. Peña (2002) señala que tras desarrollarse el juvenil este número se reduce, describiendo únicamente 4-6 dientes en esa fase del desarrollo. En *A. opercularis* el ctenolium está compuesto por 3-4 dientes en la hendidura bisal, que continúan con 5-12 dientes de menor tamaño, y que según señala Peña (2002) parecen reducirse en el estado adulto, ya que describe únicamente 3-10 dientes en esa fase de desarrollo. El ctenolium de *H. distorta* está compuesto por 3-6 dientes en la hendidura bisal, que continúan con 4-12 dientes de menor tamaño, siendo esta la especie de pectínido que presenta el mayor número de dientes registrado.

Se observaron importantes diferencias en la formación y abundancia de costillas y espinas sobre la superficie valvar de los pectínidos. En *P. maximus* la altura de la concha en la que dejan de observarse las ornamentaciones valvares es la misma que la altura con la que comienzan a formarse las costillas radiales, es decir, 7 mm, siendo su formación posterior a las demás especies. Se ha observado que las valvas del juvenil de *P. maximus* presentan entre 15 y 17 costillas radiales anchas y elevadas, que se mantienen también en la fase adulta (Pazos, 1993; Rolán & Otero-Schmitt, 1996; Dance, 2002; Peña, 2002). El número de costillas existentes en los juveniles de vieira es reducido respecto al de otros pectínidos. En la especie *C. varia*, con una altura de la concha de 2 mm todavía pueden observarse las ornamentaciones valvares, al mismo tiempo que comienzan a formarse las costillas radiales redondeadas y elevadas. En este estudio, al igual que señalan Morizur (1977) y Tebble (2006), se observa que el número de costillas en

los juveniles de zamburiña captados es siempre mayor que 24. Estos valores son semejantes a las 28-36 costillas descritas por Peña (2002) en los ejemplares adultos. En ocasiones las costillas radiales pueden desarrollar espinas más evidentes en los márgenes de las valvas, por lo que se confirma la descripción del adulto realizada por Rolán & Otero-Schmitt (1996) o Peña (2002). Al igual que en *C. varia*, en *A. opercularis* de 2 mm de altura de la concha, todavía pueden observarse las ornamentaciones valvares y al mismo tiempo empiezan a formarse las costillas radiales. El número de costillas radiales en esta especie es menor que 24, lo que coincide con los resultados obtenidos en los juveniles de volandeira captados en Brest (Francia) (Morizur, 1977) y es semejante a las 21-22 costillas observadas por Peña & Rodríguez-Babío (2003). Entre las costillas radiales se observan dos filas de ornamentaciones irregulares, que con frecuencia se fusionan en una única fila. Estas ornamentaciones fueron descritas como finas láminas concéntricas empleando microscopía electrónica de barrido por Peña *et al.* (1998). En *H. distorta*, cuando los individuos alcanzan los 3 mm de altura de concha, dejan de observarse las ornamentaciones valvares. Sin embargo, las costillas radiales comienzan su formación desde los ejemplares de menor talla muestreados, es decir, 0,9 mm de altura de la concha. El número de costillas radiales de la semilla de esta especie varía ampliamente (12-35), siendo el número máximo de costillas el mismo que en *C. varia*. Es probable que el número de costillas aumente en el juvenil, ya que Tebble (2006) observa 30-40 costillas en ejemplares fijados con el biso, que se convierten en 60-70 durante la fase adulta. Además, esta especie muestra espinas muy abundantes y prominentes, dispuestas de forma desigual a lo largo de toda la superficie costal, que continúan apareciendo en los ejemplares adultos (Tebble, 2006).

La anchura de las costillas radiales también varía entre pectínidos, presentando una anchura mayor en la especie *P. maximus*, seguida de *A. opercularis* e *H. distorta*, mientras *C. varia* presenta las costillas de menor anchura. Este hecho determina que los pectínidos con costillas más anchas presenten los bordes de la concha ondulados y afilados, tal como Dance (2002) describe a la especie *P. maximus*.

Palliolum incomparabile

En esta especie, aunque la valva izquierda es ligeramente más alta que larga, es la semilla estudiada en la que menos notable es esta diferencia. Además, su forma es diferente al de otras especies debido a que su longitud máxima está un poco desplazada hacia el margen ventral.

Los ejemplares de esta especie observados en las rías gallegas presentan una altura de la valva izquierda y una altura de la valva derecha semejantes. Sin embargo, no se puede demostrar que la altura de la valva izquierda fuese superior a la valva derecha durante los primeros estadios postlarvarios, como se ha comprobado en las demás especies, ya que solamente se han captado ejemplares a partir de 2 mm de altura de la valva izquierda.

La concha de las postlarvas y juveniles de *P. incomparabile* es muy translúcida, especialmente en los bordes, como describen Peña *et al.* (1998). Estos autores también indican que el patrón del color valvar presenta gran variabilidad, pero en este estudio se ha observado que es frecuente la formación de gruesas líneas marrones desde los bordes de la concha hacia el umbo.

Las líneas de crecimiento concéntricas son muy finas en comparación con el resto de las semillas observadas en este trabajo.

Peña *et al.* (1998) señalan que el tamaño de las aurículas en las poblaciones de *P. incomparabile* de Castellón es semejante, mientras que en este estudio se ha observado que la aurícula anterior izquierda es mayor que la posterior. La aurícula posterior izquierda describe un ángulo de 115° respecto al margen dorsal, siendo uno de los mayores observados. Este valor concuerda con los resultados obtenidos por Peña *et al.* (1998).

Tanto las postlarvas como los juveniles de *P. incomparabile* presentan ornamentaciones que forman un fino enrejado de líneas radiales y concéntricas en toda la superficie valvar, formando surcos con forma de “V” invertida en los puntos de unión entre líneas, descripción semejante a la realizada por Peña *et al.* (1998).

El ctenolium de *P. incomparabile* está compuesto por 3 dientes en la hendidura bisal, siendo la especie estudiada con el menor número de dientes. Estos dientes se continúan con aproximadamente 12 dientes de menor tamaño. Por el contrario, en las fotografías de esta especie realizadas por Peña *et al.* (1998) pueden observarse 4 dientes en la hendidura y 8 a lo largo del surco auricular.

Es la única especie de los pectínidos gallegos captados en colectores que en su fase de juvenil no desarrolla costillas radiales, confirmando la concha suave descrita por Peña *et al.* (1998).

Este es el primer trabajo que describe la evolución morfológica de la semilla de pectínidos captados en colectores en las rías gallegas, incluyendo tanto especies comerciales como sin interés en el mercado y abarcando un amplio rango de tallas durante las fases de postlarva y juvenil.

Por otro lado, este estudio pretende también ser una herramienta que posibilite la identificación de la semilla de las distintas especies captadas mediante colectores, lo que permitirá evaluar la evolución de las cohortes de las especies que se fijan en los colectores y el rendimiento final de cada una de las especies mediante el análisis periódico de los colectores antes de proceder al despegue, facilitando la estrategia de las operaciones de cultivo.

7.5 Conclusiones

- Las postlarvas y los juveniles de los pectínidos presentes en las rías gallegas pueden ser identificados en base a sus características morfológicas externas empleando un estereomicroscopio.
- La valva izquierda de *P. maximus* presenta mayor longitud que altura. Por el contrario, en las demás especies, la altura de la valva izquierda es mayor que la longitud. Esta relación es más notable en el caso de *C. varia*, seguida de la especie *H. distorta*, mientras que *A. opercularis* muestra valores intermedios.
- En los pectínidos estudiados, la altura de la valva izquierda es superior a la altura de la valva derecha durante los primeros estadios postlarvarios, pero a partir de los 2 mm de altura de la valva izquierda ambas alturas tienden a igualarse.
- La concha de *P. maximus* es muy translúcida. Por el contrario, la concha de *A. opercularis* es muy opaca, mientras que las valvas de *C. varia* e *H. distorta* presentan valores intermedios de opacidad.
- Las postlarvas de *P. maximus* presentan con frecuencia manchas discontinuas de color marrón que discurren desde los bordes de las conchas hasta el umbo. Las postlarvas de *C. varia* e *H. distorta* son frecuentemente rojizas y en ocasiones muy brillantes en la *C. varia*. Mientras que el color de las valvas de *A. opercularis* es muy variable, con predominancia del marrón-parduzco con matices claros.
- El color de las valvas se oscurece de manera progresiva en todos los pectínidos, adquiriendo en los juveniles de *P. maximus* color pardo, más oscuro en la valva izquierda; manteniéndose en *C. varia* los tonos rojizos; presentando distintos patrones de color, tanto en *A. opercularis* como en *H. distorta*, siendo más oscuros en la valva izquierda que en la derecha de *A. opercularis*.
- Las postlarvas y juveniles de *H. distorta* presentan líneas de crecimiento muy marcadas y elevadas, en *P. maximus* son finas y en *C. varia* se observa una situación intermedia. Sin embargo, en *A. opercularis* las líneas de crecimiento son poco patentes durante el estadio postlarvario.
- El desarrollo de la aurícula posterior izquierda en relación a la altura de la valva izquierda, es mayor en *P. maximus*, presenta valores intermedios en *A. opercularis* y menores en *C. varia* e *H. distorta*.
- La longitud de la aurícula anterior izquierda es inferior a la longitud de la aurícula posterior izquierda en *P. maximus*. En *A. opercularis* los valores de ambas aurículas son semejantes, pero tiende a presentar mayor longitud la aurícula anterior, y tanto *C. varia* como *H. distorta*, muestran una mayor longitud de la aurícula anterior.
- El ángulo que forma la aurícula posterior izquierda respecto al margen dorsal de la valva es un ángulo recto en el caso de *P. maximus*, entre recto y obtuso en *A. opercularis* e *H. distorta* y más obtuso en *C. varia*.

- Las ornamentaciones localizadas en la fase prerradial de la valva izquierda de *P. maximus* son surcos redondeados de muy pequeña dimensión, separados entre sí, que desaparecen cuando la altura de la concha alcanza aproximadamente 7 mm. *C. varia* presenta surcos lineales cortos dispuestos de forma radial, combinadas de forma irregular con algún surco redondeado, que desaparecen con una altura de la concha de aproximadamente 3 mm. Las ornamentaciones de *A. opercularis* son surcos circulares, triangulares e irregulares, separados entre sí, con mayores dimensiones hacia los bordes de la concha. Los surcos desaparecen en esta especie con una altura de la concha aproximada a los 3 mm. E *H. distorta* presenta un enrejado de surcos y elevaciones lineales cortas dispuestas de forma radial, que se superponen entre sí y dejan de observarse cuando la altura de la concha alcanza aproximadamente los 3 mm.
- Durante el desarrollo de las postlarvas, en *P. maximus* la valva izquierda se mantiene plana y la derecha va adquiriendo cierta convexidad, mientras que en *C. varia* e *H. distorta* adquieren convexidad ambas valvas y en *A. opercularis* aunque las dos valvas van adquiriendo cierto grado de convexidad, ésta es mayor en la valva izquierda.
- La profundidad de la hendidura bisal es mayor en *C. varia* e *H. distorta*, los valores de *A. opercularis* son intermedios y *P. maximus* presenta una hendidura bisal menos profunda.
- La amplitud de la hendidura bisal es mayor en el juvenil de *P. maximus*, le sigue *H. distorta*, *C. varia* y *A. opercularis* presenta la menor amplitud de la hendidura bisal.
- El ctenolium empieza a diferenciarse a partir de 1 mm de altura en *A. opercularis*, de 2 mm en *C. varia* e *H. distorta* y de 3 mm de altura en *P. maximus*. En *A. opercularis* está compuesto por 3-4 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de menor tamaño (5-12 pequeños dientes) a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha; en *C. varia* por 3-5 dientes en la hendidura bisal y 3-10 pequeños dientes; en *H. distorta* por 3-6 dientes en la hendidura bisal y 4-12 pequeños dientes, y en *P. maximus* por 3-4 dientes en la hendidura bisal, que continúan con 5-10 pequeños dientes en el surco auricular posterior y comienzan a reducirse a partir de los 11 mm de altura de la concha.
- En *H. distorta* la formación de las costillas radiales es muy temprana (0,9 mm de altura de la concha). Posteriormente forman las costillas *C. varia* y *A. opercularis* (2 mm de altura de la concha), y por último las forma la especie *P. maximus* (7 mm de altura de la concha).
- Los juveniles de *H. distorta* presentan 12-35 costillas radiales elevadas con espinas muy abundantes y prominentes, dispuestas de forma desigual. En *C. varia* se forman 25-35 costillas radiales redondeadas y elevadas, que en ocasiones pueden desarrollar espinas también dispuestas de forma desigual, especialmente notables en los márgenes valvares. *A. opercularis* presenta 19-22 costillas radiales elevadas y los juveniles de *P. maximus* muestran 15-17 costillas radiales anchas y elevadas.

- La anchura de las costillas es mayor en la especie *P. maximus*, seguida de *A. opercularis* e *H. distorta*, mientras *C. varia* presenta las costillas de menor anchura.
- La concha de las postlarvas y juveniles de *P. incomparabile* presenta una morfología característica, siendo ligeramente alargada en sentido dorso-ventral, pero con mayor longitud en el margen ventral.
- La altura de la valva izquierda y la altura de la valva derecha en los ejemplares de *P. incomparabile* analizados es muy semejante.
- La concha de esta especie es muy translúcida y presenta diferentes patrones de color, formando con frecuencia gruesas líneas radiales.
- Las líneas de crecimiento concéntricas en *P. incomparabile* son finas y más patentes en la valva izquierda.
- La longitud de la aurícula anterior izquierda es mayor que la longitud de la aurícula posterior en los ejemplares estudiados y esta última describe un ángulo obtuso respecto al margen dorsal.
- Las ornamentaciones de *P. incomparabile* constan de finas líneas radiales, muy abundantes, entrecruzadas con las líneas concéntricas a modo de cuadrículas, con pequeños surcos con forma de “V” invertida en los puntos de unión.
- En *P. incomparabile* el ctenolium está compuesto por 3 dientes en la hendidura bisal, que continúan con una dentición de aproximadamente 12 pequeños dientes a lo largo del surco auricular posterior de la valva derecha.
- Los juveniles de *P. incomparabile* no presentan costillas radiales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalde, S. L., J. Fuentes & A. González-Fernández (2003). "Identification of *Mytilus galloprovincialis* larvae from the Galician rías by mouse monoclonal antibodies." Aquaculture **219**: 545-559.
- Abarca, A. & J. C. Castilla (1997). "Chemical induction of settlement and metamorphosis in *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) larvae." Proc. 11th Int. Pectinid Workshop. 10-15 Abril. La Paz (B.C.S. México). pp. 105-106.
- Acosta, C. P. & G. Román (1994). "Growth and reproduction in a southern population of scallop *Pecten maximus*." En: Bourne, N. F., B. L. Bunting & L. D. Townsend (Eds.) Proc. 9th Int. Pectinid Workshop. 22-27 April 1993. Vol. 1. Nanaimo, B.C. (Canadá). Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. pp. 119-126.
- Acosta, C. P., G. Román, M. J. Campos & J. Cano (1999). "On some factors affecting *Aequipecten* settlement." En: Book of Abstracts 12th Int. Pectinid Workshop. 5-11 mayo. Bergen (Norway). pp. 68-69.
- Acosta, C. P., J. Cano, M. J. Campos, G. Román & E. Lowe (1997). "Effect of depth on reproductive cycles and reserves in suspension cultures of *Aequipecten opercularis*." En: Book of Abstracts 11th Int. Pectinid Workshop. 10-15 abril. La Paz (B.C.S. México). pp. 182-183.
- Allarakh, C. (1979). "Reserches histologiques et experimentales de la différenciation sexuelle et du cycle de reproduction de *Chlamys opercularis* L. (Mollusque lamelibranche)." Tesis doctoral. U. E. R. des Sciences de la Vie et du Comportement. Universidad de Caen (Francia). 148 pp.
- Allsop, D. J. (2003). "Changing sex at the same relative body size." Nature **425**: 783-784.
- Álvarez, P. (2005). "Dinámica reproductora de dos especies de almejas autóctonas de las Rías Gallegas, *Venerupis aurea* (Gmelin, 1790) y *Venerupis pullastra* (Montagü, 1803); estudio histológico, histoquímico y estereológico." Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 181 pp.
- Ambrose Jr., W. G., & E. A. Irlandi (1992). "Height of attachment on seagrass leads to trade-off between growth and survival in the bay scallop *Argopecten irradians*." Mar. Ecol. Prog. Ser. **90**: 45-51.
- Amirthalingam, C. (1928). "On lunar periodicity in reproduction of *Pecten opercularis* near Plymouth in 1927-28." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. (New Series) **15**: 605-641.
- Ansell, A. D. (1974). "Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Chlamys septemradiata* from the Clyde Sea area." Mar. Biol. **25**: 85-99.
- Ansell, A. D. (1978). "Storage and utilization of reserves in pectinid bivalves with particular reference to the adductor muscle." Proc. Scallop Workshop, Brest (France). 8-13 May. 17 pp.
- Ansell, A. D., J. C. Dao & J. Mason (1991). "Three european scallops: *Pecten maximus*, *Chlamys* (*Aequipecten opercularis*) and *Chlamys varia*." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 715-751.
- Avendaño, M. (1993). "Données sur la biologie de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), Mollusque bivalve du Chili." Tesis doctoral. Université de Bretagne Occidentale. Brest (Francia). 159 pp.
- Avendaño, M. & M. Cantillánez (1989). "Comparación del crecimiento de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) en sistemas de cultivo suspendido en la bahía de Mejillones del Sur, Chile." Infor. Tecn. de Invest. Pesq. **153**: 115.
- Avendaño, M. & M. Le Pennec (1998). "Presencia de células auxiliares en la gametogénesis del ostión del Norte *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (Mollusca, Bivalvia, Pectinidae)." Estud. Oceanol. **17**: 13-16.
- Avendaño-Herrera, R. E., C. E. Riquelme & F. Silva (2002). "Utilización de biopelículas bacterianas en el asentamiento de larvas de *Argopecten purpuratus* (Lamarck 1819) en un hatchery comercial." Revista de Biología Marina y Oceanografía **37**(1): 35-41.
- Avendaño, M., M. Cantillánez, G. Thouzeau & J. Peña (2007). "Artificial collection and early growth of spat of the scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819), in La Rinconada Marine Reserve, Antofagasta, Chile." Sci. Mar. **71**(1): 197-205.

- Baird, R. H. (1966). "Notes on an scallop (*Pecten maximus*) population in Holyhead harbour." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **46**: 33-47.
- Balbani, E. G. (1864). "Sur la constitution du germe dans l'oeuf animal avant la fecondation." C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. **58**: 584.
- Barber, B. J. & N. J. Blake (1981). "Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say)." J. Exp. Biol. Ecol. **52**: 121-134.
- Barber, B. J. & N. J. Blake (1983). "Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck), at its southern distributional limit." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **66**: 247-256.
- Barber, B. J. & N. J. Blake (1985). "Intra-organ biochemical transformation associated with oogenesis in the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* (Say), as indicated by ¹⁴C incorporation." Biol. Bull. **168**: 39-49.
- Barber, B. J. & N. J. Blake (1991). "Reproductive physiology." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 377-428.
- Barber, B. J. & N. J. Blake (2006). "Reproductive physiology." En: Shumway, S. E. & G. J. Parsons (Eds.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture, 2nd edition." Cap. 6. Elsevier B.V. Estados Unidos. pp. 357-416.
- Barber, B. J., R. Getchell, S. Shumway & D. Schick (1988). "Reduced fecundity in a deep-water population of the giant scallop *Placopecten magellanicus* in the Gulf of Maine, USA." Mar. Ecol. Prog. Ser. **42**: 207-212.
- Bargeton, M. (1942). "Les variations saisonnieres du tissu conjonctif vesiculeux de l'huitre." Bull. Biol. Fr. Belg. **73**: 175-191.
- Baur, B. (1998). "Sperm competition in molluscs." En: Birkhead, T. R. & A. P. Møller (Eds.) "Sperm competition and sexual selection." London Academic Press. pp. 255-305.
- Bayne, B. L. (1964a). "Primary and secondary settlement in *Mytilus edulis* L. (Mollusca)." J. Anim. Ecol. **33**: 513-523.
- Bayne, B. L. (1964b). "The responses of the larvae *Mytilus edulis* (L.) to light and to gravity." OIKOS **15**: 162-174.
- Bayne, B. L. (1965). "Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.)." Ophe- lia **2**: 1-47.
- Bayne, B. L. (1975). "Reproduction in bivalve molluscs under environmental stress." En: Vernberg, F. J. (Ed.) "Physiological ecology of estuarine organisms." University South Carolina Press, Columbia, pp. 259-277.
- Bayne, B. L. (1976). "Aspects of reproduction in bivalves molluscs." En: Wiley, M. L. (Ed.) "Estuarine processes. Vol. 1. Uses, stresses and adaptation to the estuary." Academic press, New York. pp. 432-448.
- Bayne, B. L. & R. C. Newell (1983). "Physiological energetics of marine Mollusca." En: Saleuddin, A. S. M. & K. M. Wilbur (Eds.) "The Mollusca, Vol. 4." Academic Press, New York. pp. 407-515.
- Bayne, B. L., A. Bubel, P. A. Gabbott, D. R. Livingstone, D. M. Lowe & M. N. Moore (1982). "Glyco- gen utilization and gametogenesis in *Mytilus edulis* L." Mar. Biol. Lett. **3**: 89-105.
- Bayne, B. L., P. N. Salkeld & C. M. Worrall (1983). "Reproductive effort and value in different popula- tions of the marine mussel, *Mytilus edulis* L." Oecologia (Berl.) **59**: 18-26.
- Beaumont, A. R. & D. A. Barnes (1992). "Aspects of veliger larval growth and byssus drifting of the spat of *Pecten maximus* and *Aequipecten (Chlamys) opercularis*." ICES J. Mar. Sci. **49**(4): 417-423.
- Beaumont, A. & V. Hall (1999). "Getting the queen to spawn: experiments with *Aequipecten opercu- laris*." En: Book of abstracts 12th Int. Pectinid Workshop. 5-11 Mayo. Noruega.
- Belapatiño, A. O. (2007). "Variabilidad del asentamiento larval de mitílidos en Bahía Independencia, Pisco-Perú, durante el periodo 1996-2003." Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Mayor de San Marcos (Perú). 65 pp.

- Bell, J. L. & J. P. Grassle (1998). "A DNA probe for the identification of larvae of the commercial surfclam (*Spisula solidissima*)."
Mol. Mar. Biol. Biotechnol. **7**: 127-137.
- Bellolio, G., P. Toledo & B. Campos (1994). "Morfología de la concha larval y postlarval del ostión *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia, Pectinidae) en Chile." Revista Chilena de Historia Natural **67**: 229-237.
- Bendezu, I. F., J. W. Slater & B. F. Carney (2005). "Identification of *Mytilus spp.* and *Pecten maximus* in Irish Waters by standard PCR of the 18S rDNA gene and multiplex PCR of the 16S rDNA gene." Mar. Biotechnol. **7**(6): 687-696.
- Bendimerad, M. A., Á. Louro, P. Iglesias & G. Román (2007). "Cultivo en suspensión de la zamburiña, *Chlamys varia*, en Galicia. Cultivo intermedio primario de semilla producida en hatchery." En: Libro de Actas XI Congreso Nac. Acuicult. 24-28 septiembre. Vigo (España). pp. 507-510.
- Beninger, P. G. (1987). "A qualitative and quantitative study of the reproductive cycle of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, in the Bay of Fundy (New Brunswick, Canada)." Can. J. Zool. **65**: 495-498.
- Beninger, P. G. & M. Le Pennec (1991). "Functional anatomy of scallops." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 177-191.
- Beninger, P. G. & M. Le Pennec (2006). "Structure and function of scallops." En: Shumway, S. E. & G. J. Parsons (Eds.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture, 2nd edition." Cap. 3. Elsevier B.V. Estados Unidos. pp. 123-227.
- Berthelin, C., K. Kellner & M. Mathieu (2000). "Histological characterization and glucose incorporation into glycogen of the pacific oyster *Crassostrea gigas* storage cells." Mar. Biotechnol. **2**: 136-145.
- Blanco, J., C. P. Acosta, C. Mariño, S. Muñiz, H. Martín, Á. Moroño, J. Correa, F. Arévalo & C. Salgado (2006). "Depuration of domoic acid from different body compartments of the king scallop *Pecten maximus* grown in raft culture and natural bed." Aquat. Living Resour. **19** (3): 257-265.
<http://dx.doi.org/10.1051/alr:2006026>
- Blundstone, E. R. (1885). "On the occurrence of glycogen as a constituent of the vesicular cells of the connective tissue of molluscs." Proc. R. Soc. Lond. **38**: 442-445.
- Bonardelli, J. C. & J. H. Himmelman (1995). "Examination of assumptions critical to body component indices: application to the giant scallop *Placopecten magellanicus*." Can. J. Fish. Aquat. Sci. **52**: 2457-2469.
- Borzone, C. A., P. R. Pezzuto & Y. A. García Tavares (2003). "Características histológicas del ciclo reproductivo de *Euvola ziczac* (Linnaeus) (Pectinidae, Bivalvia) del litoral sur-sudeste del Brasil." Revista Brasileira de Zoologia **20**(4): 763-772.
- Bourne, N. & C. A. Hodgson (1991). "Development of a viable nursery system for scallop culture." En: Shumway S. E. & P. A. Sandifer, (Eds.) "An International Compendium of Scallop Biology and Culture." The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L. A. (USA). pp 273-280.
- Bourne, N., C. A. Hodgson & J. N. C. Whyte (1989). "A manual for scallop culture in British Columbia." Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. **1694**: 1-215.
- Braat, A. K., T. Zandbergen, S. Van De Water, H. J. Th Goos & D. Zivkovic (1999). "Characterization of zebrafish primordial germ cells: morphology and early distribution of vasa RNA." Dev. Dynam. **216**: 153-167.
- Brand, A. R., J. D. Paul & J. N. Hoogesteger (1980). "Spat settlement of scallops *Chlamys opercularis* (L.) and *Pecten maximus* (L.) on artificial collectors." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **60**: 379-389.
- Brea, J. (1986). "Variaciones energéticas estacionales en la composición bioquímica de *Pecten ziczac* (Linnaeus, 1750), en relación con el metabolismo energético, reproducción y crecimiento." Tesis de licenciatura. Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná (Venezuela). 75 pp.
- Brokordt, K. & H. Guderley (2004). "Binding of glycolytic enzymes in adductor muscle of Iceland scallop *Chlamys islandica* is altered by reproductive status." Mar. Ecol. Prog. Ser. **268**: 141-149.
- Broom, M. J. (1976). "Synopsis of biological data on scallops." FAO Fish. Biol. Synop. 114. 44 pp.

- Brown, D. & R. Guerra (1980). "Recuperación gonadal en Ostion *Chlamys (Argopecten) purpurata* (Lamarck, 1819) luego de evacuación de gametos." Arch. Biol. Med. Exper. **13**: 363-368.
- Buestel, D. & J. C. Dao (1979). "Aquaculture extensive de la coquille Saint Jacques: résultats d'un semis expérimental." La Pêche maritime **1215**: 363-365.
- Buestel, D., J. C. Dao & G. Lemarie (1976). "Collecte de naissain de pectinides en Bretagne. CIEM, CM/43.
- Buestel, D., J. C. Dao & G. Lemarié (1979). "Collecte de naissain de pectinidés en Bretagne." Rapp. P.-v. Réun. Cons. int. Explor. Mer **175**: 80-84.
- Burnell, G. M. & P. G. Rodhouse (1980). "Growth and reproduction of the variegated scallop, *Chlamys varia* (L.)." En: Proc. 3th Int. Pectinid Workshop. Port Erin, Isle of Man (Reino Unido). 11pp.
- Burnell, G. M. (1983). "Growth and reproduction of the variegated scallop *Chlamys varia* (L.) on the west coast of Ireland." Tesis doctoral. University College Galway (Irlanda). 295 pp.
- Burnell, G. M. (1991). "Annual variations in the spawning and settlement of the scallop *Chlamys varia* (L.) on the west coast of Ireland." En: Shumway S. E. & P. A. Sandifer (Eds.) "An International Compendium of Scallops Biology and Culture" The World Aquaculture Society, Baton Rouge L. A. (USA) pp. 47-59.
- Cáceres-Martínez, J. & A. Figueras (1998). "Distribution and abundance of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) larvae and post-larvae in the Ría de Vigo (NW Spain)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **229**: 277-287.
- Callan, C. K. (2007). "Assessment of the flame angelfish (*Centropyge loriculus*) as a model species in studies on egg and larval quality in marine fishes." Tesis doctoral. Universidad de Maine (USA). 217 pp.
- Calow, P. (1981). "Resource utilization and reproduction." En: Townsend, C. R. & P. Calow (Eds.) "Physiological ecology." Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 245-270.
- Calvo, J. E. Morricóni & P. M. Orlor (1998). "Estrategias reproductivas de moluscos bivalvos y equinoideos." En: Boschi, E. E. (Ed.) "El mar argentino y sus recursos pesqueros." Tomo 2. "Los moluscos de interés pesquero. Cultivos y estrategias reproductivas de bivalvos y equinoideos." pp. 195-231.
- Campos, B. & L. Ramorino (1990). "Larvas y postlarvas de Pholadacea de Chile (Mollusca: Bivalvia)." Revista de Biología Marina, Valparaíso **25**: 15-63.
- Campos, M. J., G. Román, J. Cano, M. C. Vázquez, T. García-Jiménez, L. Fernández & M. C. Presas (1999). "Scallop *Pecten maximus* culture in Fuengirola, Malaga, South Spain. A first attempt." En: Book of Abstracts 12th Int. Pectinid Workshop. 5-11 May. Bergen (Norway). pp. 41-42.
- Campos, M. J., G. Román, J. Cano & C. P. Acosta (2001). "Growth and reproduction of the Queen scallop, *Aequipecten opercularis* in suspended culture in Galicia (NW Spain)." En: Book of Abstracts 13th Int. Pectinid Workshop. 18-24 abril. Coquimbo (Chile).
- Canales, J. (1998) "Estudio comparativo del ciclo reproductor de dos poblaciones de *Aequipecten opercularis* (L.) (Bivalvia: Pectinidae)." Tesis doctoral. Universidad de Valencia. 222 pp.
- Cano, J. & M. J. Campos (2003). "Interannual variations in pectinid spat collection in Fuengirola (Málaga, Spain), with special reference to *Chlamys varia* and *Aequipecten opercularis*." En: Book of Abstracts 14th Int. Pectinid Workshop. 23-29 abril. St. Petesburg, Florida (USA). pp. 37-38.
- Cano, J., T. García-Jiménez & G. Román (1988). "Primeros resultados obtenidos con colectores de pectínidos en Málaga (SE de España)." Pub. Inst. Estud. Almerienses.
- Cano, J., M. J. Campos, G. Román, M. C. Vázquez, T. García, L. Fernández & M. C. Presas (1999). "Pectinid settlement on collectors in Fuengirola, Málaga, South Spain." En: Book of Abstracts 12th Int. Pectinid Workshop. 5-11 mayo. Bergen (Norway). pp. 70-71.
- Cano, J., M. J. Campos & G. Román (2000). "Growth and mortality of the king scallop grown in suspended culture in Malaga, Southern Spain." Aquacult. Int. **8**(2-3): 207-225.

- Cantillanez, M., M. Avendaño, G. Thouzeau & M. Le Pennec (2005). "Reproductive cycle of *Argopecten purpuratus* (Bivalvia: Pectinidae) in La Rinconada marine reserve (Antofagasta, Chile): Response to environmental effects of El Niño and La Niña." Aquaculture **246**: 181-195.
- Cantilláñez, M., C. Riquelme & M. Avendaño (2010). "Evaluación en ambiente natural, del uso de biope-lículas marinas en el asentamiento larval de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)." Lat. Am. J. Aquat. Res. **38**(1): 47-56.
- Chanley, P. & J. D. Andrews (1971). "Aids for identification of bivalve larvae of Virginia." Malacologia **11**(1): 45-119.
- Charnov, E. L. (1982). "The Theory of Sex Allocation." Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Charnov, E. L. & U. Skúladóttir (2000). "Dimensionless invariants for the optimal size (age) of sex change." Evol. Ecol. Res. **2**: 1067-1071.
- Chauvaud, L., G. Thouzeau & J. Grail (1996). "Experimental collection of great scallop postlarvae and other benthic species in the Bay of Brest: settlement patterns in relation to spatio-temporal varia-bility of environmental factors." Aquacult. Int. **4**: 263-288.
- Chen, M. & K. Soong (2002). "Estimation of age in the sex-changing, coral-inhabiting snail *Coralliophi-la violacea* from the growth striae on opercula and mark-recapture experiment." Mar. Biol. **140**: 337-342.
- Chen, M., H. Y. W. Yang & K. Soong (1998). "Preliminary observations on change of sex by the coral-inhabiting snails *Coralliophila violacea* (Lamarck) (Gastropoda: Coralliophilidae)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **230**: 207-212.
- Chipperfield, P. N. J. (1953). "Observations on the breeding and settlement of *Mytilus edulis* (L.) in Brit-ish waters." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **32**: 449-476.
- Chung, E. Y., Y. J. Park, J. Y. Lee & D. K. Ryu (2005). "Germ cell differentiation and sexual maturation of the hanging cultured female scallop *Patinopecten yessoensis* on the East Coast of Korea." J. Shellfish Res. **24**(4): 913-921.
- Coe, W. R. (1931). "Spermatogenesis in the california oyster (*Ostrea lurida*)." Biol. Bull. **61**(3): 309-315.
- Coe, W. R. (1933). "Sexual phases in *Teredo*." Biol. Bull. **65**: 283-303.
- Coe, W. R. (1941). "Sexual phases in wood-boring molluscs." Biol. Bull. **81**: 168-176.
- Coe, W. R. (1943a). "Development of the primary gonads and differentiation of sexuallity in *Teredo navalis* and other pelecypod mollusks." Biol. Bull. **84**: 178-186.
- Coe, W. R. (1943b) "Sexual differentiation in Mollusks. I. Pelecypods." Q. Rev. Biol. **18** (2):154-164.
- Coe, W. R. (1945). "Development of the reproductive system and variations in sexuality in *Pecten* and other pelecypod mollusks." Trans. Conn. Acad. Arts Scie. **36**: 673-700.
- Colas, P. & F. Dubé (1998). "Meiotic maturation in mollusc oocytes." Semin. Cell Develop. Biol. **9**: 539-548.
- Cole, H. A. (1941). "The fecundity of *Ostrea edulis*." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **25**(2): 243-260.
- Cole, H. A. (1942). "Primary sex-phases in *Ostrea edulis*." Quart. J. Micr. Sci. **83**: 317-356.
- Collin, R. (1995). "Sex, size, and position: a test of models predicting size at sex change in the protan-drous gastropod *Crepidula fornicata*." Am. Nat. **146**(6): 815-831.
- Collin, R., M. McLellan, K. Gruber & C. Bailey-Jourdain (2005). "Effects of conspecific associations on size at sex change in three species of calyptraeid gastropods." Mar. Ecol. Prog. Ser. **293**: 89-97.
- Comely, C. A. (1974). "Seasonal variations in the flesh weights and biochemical content of the scallop *Pecten maximus* (L.) in the Clyde Sea Area." J. Cons. Int. Explor. Mer. **35**: 281-295.
- Conan, G. & M. S. Shafee (1978). "Growth and biannual recruitment of the black scallop *Chlamys varia* (L.) in Lanveoc area, Bay of Brest." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **35**(1): 59-71.
- Corral, M. L., G. Henri, J. Montes & E. Polanco (2000). "La acuicultura: Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial. Tomo I. Análisis del desarrollo de los cultivos: medio,

- agua y especies.” Fundación Alfonso Martín Escudero. Mundi-Prensa Libros S. A. Madrid. 246 pp.
- Costello, D. P. (1939). “The volumes occupied by the formed cytoplasmic components in marine eggs.” Physiol. Zoöl. **12**: 13-21.
- Cox, R. T. & A. C. Spradling (2003). “A Balbiani body and the fusome mediate mitochondrial inheritance during *Drosophila* oogenesis.” Development **130**: 1579-1590.
- Cragg, S. M. & D. J. Crisp (1991). “The biology of scallop larvae.” En: Shumway, S. E. (Ed.) “Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture.” Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 75-132.
- Creese, R. G., D. R. Sehiel & M. J. Kingsford (1990). “Sex change in a giant endemic limpet, *Patella kermadecensis*, from the Kermadec Islands.” Mar. Biol. **104**: 419-426.
- Cruz, P., C. Rodríguez-Jaramillo & A. M. Ibarra (2000). “Environment and population origin effects on first sexual maturity of Catarina scallop, *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842).” J. Shellfish Res. **19**(1): 89-93.
- Dalmon, J. (1935). “Note sur la biologie du pétoncle (*Chlamys varia* L.).” Rev. Trav. Off. Pêches marit. **8**: 268-281.
- Dalmon, J. (1938). “Divers models de sexualité chez les mollusque lamellibranches de la famille des Pectinides; changement de sexe et hermaphroditisme transitoire chez *Chlamys varia*.” Compt. Rend. Acad. Sci. Paris **207**: 181-183.
- Dance, S. P. (2002). “Conchas marinas” Omega. 256 pp.
- Dare, P. J. & R. C. A. Bannister (1987). “Settlement of scallop, *Pecten maximus*, spat on natural substrates off south-west England: the hydroid connection. En: Book of Abstracts 6th Int. Pectinid Workshop. Menai Bridge, Wales (Reino Unido).
- Darriba, S. (2001). “Biología de la navaja (*Ensis arcuatus* Jeffreys, 1865) de la Ría de Vigo (N.O. de España): Crecimiento y Reproducción.” Tesis Doctoral. Dep. Bioquímica, Genética e Inmunología. Universidad de Vigo. 283 pp.
- Darriba, S., F. San Juan & A. Guerra (2005). “Energy storage and utilization in relation to the reproductive cycle in the razor clam *Ensis arcuatus* (Jefferys 1865).” ICES J. Mar. Sci. **62**: 886-896.
- De la Roche, J. P. (2008) “Ciclo reproductor y anatomía funcional de la gónada de *Chlamys varia* (Linnaeus, 1758).” Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 336 pp.
- De la Roche, J. P. & L. A. Velasco (2008). “Cultivo larvario de los pectínidos de interés comercial de Colombia.” En: Velasco, L. A. (Ed.). “Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia.” UniMagdalena, Santa Marta, D. T. C. H. pp. 107-133.
- De la Roche, J. P., A. Louro & G. Román (2003). “Spawning Induction of the Queen Scallop *Aequipecten opercularis* in the Hatchery.” En: Book of Abstracts 14th Int. Pectinid Workshop. 23-29 Abril. St. Petersburg, Florida (USA).
- De la Roche, J. P., A. Louro & G. Román (2005). “Settlement of *Chlamys varia* (L.) in the hatchery.” J. Shellfish Res. **34**(2): 363-368.
- De Smedt, V., D. Szöllösi & M. Kloc (2000). “The Balbiani Body: Asymmetry in the Mammalian Oocyte.” Genesis **26**: 208-212.
- Deguchi, R. (2007). “Fertilization causes a single Ca²⁺ increase that fully depends on Ca²⁺ influx in oocytes of limpets (Phylum Mollusca, Class Gastropoda).” Dev. Biol. **304**: 652-663.
- Demers, A., Y. Lagadeuc, J. J. Dodson & R. Lemieux (1993). “Immunofluorescence identification of early life history stages of scallops (Pectinidae).” Mar. Ecol. Prog. Ser. **97**: 83-89.
- Desrosiers, R. R., J. Désilets & F. Dubé (1996). “Early developmental events following fertilization in the giant scallop *Placopecten magellanicus*.” Can. J. Fish. Aquat. Sci. **53**: 1382-1392.
- Dohmen, M. R. (1983). “Gametogenesis.” En: Tompa, A. S., N. H. Verdonk & J. A. M. van der Biggelaar (Eds.) “The Mollusca Vol. 3: Development.” Academia Press, Inc., Orlando. pp. 1-48.

- Domínguez, M. (1982). "Estudio sistemático de las larvas de los moluscos lamelibranquios de la Ría de Pontevedra." Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. 115 pp.
- Domínguez, M. & M. Alcaraz (1983). "Larvas de moluscos lamelibranquios de la Ría de Pontevedra: Metodología y sistemática." Invest. Pesq. **47**: 345-357.
- Dorange, G. (1989). "Les gametes de *Pecten maximus* L. (Mollusca, Bivalvia)." Tesis doctoral. Université de Bretagne Occidentale-Brest (Francia). 140 pp.
- Dorange, J. & M. Le Pennec (1989). "Ultrastructural study of the oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Brieuc." Mar. Biol. **103**(3): 339-348.
- Dorange, G., Y. M. Paulet & M. Le Pennec (1989). "Etude cytologique de la partie femelle de la gonade de *Pecten maximus* recolde en Baie de Saint-Brieuc. 2. Ovogenese et lyse ovocytaire." Haliotis **19**: 299-314.
- Duinker, A. & A. Nylund (2002). "Seasonal variations in the ovaries of the great scallop (*Pecten maximus*) from western Norway." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **82**: 477-482.
- Durán, R., S. García-Gil & F. Vilas (2000). "Aplicación del sonar de barrido lateral a la cartografía de fondos marinos. Ejemplo de la Ría de Pontevedra (Galicia, NO España)." Journal of Iberian Geology **26**: 45-66.
- Eggleston, D. (1962). "Spat of the scallop (*Pecten maximus* (L.) from off Port Erin, Isle of Man." Rep. Mar. Biol. Stn., Port Erin **74**: 29-32.
- Ehmcke, J., J. Wistuba & S. Schlatt (2006). "Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives." Hum. Reprod. Update **12**(3): 275-282.
- Elkin, C. & D. J. Marshall (2007). "Desperate larvae: influence of deferred costs and habitat requirements on habitat selection." Mar. Ecol. Prog. Ser. **335**: 143-153.
- Epp, J., M. Bricelj & R. Malouf (1988). "Seasonal partitioning and utilization of energy reserves in two ages classes of the bay scallop *Argopecten irradians* (Lamarck)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **121**: 112-136.
- Erkan, M. & M. Sousa (2002) "Fine structural study of the spermatogenic cycle in *Pitar rudis* and *Chamelea gallina* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae)" Tissue Cell **34**(4): 262-272.
- Ewen-Campen, B., E. E. Schwager & C. G. M. Extavour (2010). "The molecular machinery of germ line specification." Mol. Reprod. Dev. **77**: 3-18.
- Extavour, C. G. & M. Akam (2003). "Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation." Development **130**: 5869-5884.
- Fabioux, C. (2004). "Origine et développement del cellules germinales chez l'huître *Crassostrea gigas*: intérêt pour le contrôle de la reproduction en éclosion." Université de Bretagne Occidentale-Brest (Francia). 199 pp.
- FAO, Anuario 2008. "Estadísticas de pesca y acuicultura." 212 pp.
- Farias, A., I. Uriarte & J. C. Castilla (1998). "A biochemical study of the larval and postlarval stages of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus*." Aquaculture **166**: 37-47.
- Ferraz-Reyes, E. (1987). "Productividad primaria del Golfo de Cariaco, Venezuela." Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente **26**(1-2): 91-110.
- Figueiras, F. G., U. Labarta & M. J. Fernández-Reiriz (2002). "Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rías Baixas of Galicia." Hydrobiologia **484**: 121-131.
- Fraga, F. (1996). "As Rías." En: Díaz Fierros, F. (Ed.) "As Augas de Galicia." Consello da Cultura Galega. Santiago de Compostela. pp. 213-280.
- Franco, A., C. Heude Berthelin, D. Goux, P. Sourdain & M. Mathieu (2008). "Fine structure of the early stages of spermatogenesis in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia)." Tissue Cell **40**: 251-260.
- Fréchette, M. & G. Daigle (2002). "Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **270**: 73-91.

- Freites, L. P. & L. A. Velasco (2008). "Cultivo de pectínidos juveniles y adultos de interés comercial de Colombia." En: Velasco, L. A. (Ed.). "Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia." UniMagdalena, Santa Marta, D. T. C. H. pp. 159-199.
- Freites, L. P., J. P. De la Roche & L. A. Velasco (2008). "Asentamiento, metamorfosis y cultivo postlarvario de los pectínidos de interés comercial de Colombia." En: Velasco, L. A. (Ed.). "Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia." UniMagdalena, Santa Marta, D. T. C. H. pp. 135-157.
- Frischer, M. E., J. M. Danforth, L. C. Tyner, J. R. Leverone, D. C. Marelli, W. S. Arnold & N. J. Blake (2000) "Development of an *Argopecten*- specific 18S rRNA targeted genetic probe." Mar. Biotechnol. **2**: 11-20.
- Frischer, M. E., J. M. Danforth, R. M. Bower & W. S. Arnold (2003). "A genetic probe for the sea scallop (*Placopecten magellanicus*): Molecular approaches for tracking larval dispersion." 14th Int. Pectinid Workshop. 23-29 Abril. St. Petersburg, Florida (USA).
- Fujiwara, Y., T. Komiya, H. Kawabata, M. Sato, H. Fujimoto, M. Furusawa & T. Noce (1994). "Isolation of a DEAD-family protein gene that encodes a murine homolog of *Drosophila* vasa and its specific expression in germ cell lineage." Dev. Biol. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **91**: 12258-12262.
- Fuller, S. C., R. A. Lutz (1989). "Shell morphology of post-larval mytilids from the north-western Atlantic." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **69**: 181-218.
- Gabbott, P. A. (1975). "Storage cycles in marine bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis." En: Barnes, H. (Ed.) Proc. 9th European Marine Biological Symposium. Aberdeen University Press, Aberdeen (Escocia). pp. 191-211.
- Gabbott, P. A. (1983). "Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs." En: Hochachka, P. W. (Ed.) "The Mollusca. Vol. 2. Environmental biochemistry and physiology." Academic Press, New York. pp. 165-217.
- Galtsoff, P. S. (1964) "The american oyster *Crassostrea virginica* Gmelin." U.S. Fish Wild. Bull. **64**: 456 pp.
- García-Esquivel, Z. & V. M. Bricelj (1993). "Ontogenic changes in microhabitat distribution of juvenile Bay scallops, *Argopecten irradians irradians* (L.), in eelgrass beds, and their potential significance to early recruitment." Biol. Bull. **185**: 42-55.
- Gardner, A., D. J. Allsop, E. L. Charnov & S. A. West (2005). "A dimensionless invariant for relative size at sex change in animals: explanation and implications." Am. Nat. **165**(5): 551-566.
- Garland, E. D. & C. A. Zimmer (2002). "Techniques for the identification of bivalve larvae." Mar. Ecol. Prog. Ser. **225**: 299-310.
- Gerard, A., M. Salaun & S. Tritar (1989). "Critères de compétence des larves à la métamorphose chez *Pecten maximus*." Haliotis **19**: 373-380.
- Ghiselin, M. T. (1969). "The evolution of hermaphroditism among animals." Q. Rev. Biol. **44**(2): 189-208.
- Giese, A. C. (1959). "Comparative physiology: Annual reproductive cycles of marine invertebrates." Annu. Rev. Physiol. **21**: 547-576.
- Gimeno, S., M. C. Sarasquete & M. L. González de Canales (1991). "El glucógeno de las células de almacenamiento del mejillón *Mytilus galloprovincialis* Lamark, 1819: Demostración histoquímica." Sci. Mar. **55**(2): 453-457.
- Gomori, G. (1950). "A rapid one-step trichrome stain." Am. J. Clin. Path. **20**: 661-664.
- Gosling, E. (Ed.) (2007). "Bivalve molluscs. Biology, ecology and culture." Fishing New Books, Oxford. 443 pp.
- Graells, M. P. (1870). "Exploración científica de las costas del departamento marítimo del Ferrol, en el verano 1869." Est. Tip. de T. Fontanet, Madrid. 543 pp.
- Grant, A. & P. A. Tyler (1983). "The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I: Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices." Int. J. Invert. Rep. Dev. **6**(5-6): 259-269.

- Greenstein, D. (2005). "Control of oocyte meiotic maturation and fertilization." En: Kimble, J. & S. Strome (Eds.) "WormBook." The *C. elegans* Research Community: 1-12. doi/10.1895/wormbook.1.7.1, <http://www.wormbook.org>.
- Guo, X. & Y. Luo (2006). "Scallop culture in China." En: Shumway S. E. & G. J. Parsons (Eds.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture, 2nd edition." Cap. 23. Elsevier B. V. Amsterdam. pp. 1143-1162.
- Guo, Y., D. Bozic, V. N. Malashkevich, R. A. Kammerer, T. Schulthess & J. Engel (1998). "All-trans retinol, vitamin D and other hydrophobic compounds bind in the axial pore of the five-stranded coiled-coil domain of cartilage oligomeric matrix protein." *EMBO J.* **17**(18): 5265-5272.
- Guraya, S. S. (1979). "Recent advances in the morphology, cytochemistry, and function of Balbiani's vitelline body in animal oocytes." *Int. Rev. Cytol.* **59**: 249-321.
- Haag, E. S. (2005). "The evolution of nematode sex determination: *C. elegans* as a reference point for comparative biology." En: "WormBook. The *C. elegans* Research Community." <http://www.wormbook.org>. pp. 1-14.
- Hardy, D. (Ed.) (1991). "Scallop Farming." Fishing News Books, Oxford (England). 237 pp.
- Hardy, D. (Ed.) (2006). "Scallop farming, 2nd edition." Blackwell Publishing, Oxford. 237 pp.
- Hardy, D. & A. Walford (Eds.) (1994). "The biology of scallop farming." Acquaculture Support, Erbusaig, Kyle of Lochalsh, Scotland, U.K. 214 pp.
- Hare, M. P., S. R. Palumbi & C. A. Butman (2000). "Single-step species identification of bivalve larvae using multiplex polymerase chain reaction." *Mar. Biol.* **137**: 953-961.
- Harvey, M., E. Bourget, C. Legault & R. G. Ingram (1995). "Short-term variations in settlement and early spat mortality of Iceland scallop, *Chlamys islandica* (O. F. Müller)." *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **194**: 167-187.
- Hay, B., L. Y. Jan & Y. N. Jan (1988). "A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by vasa and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases." *Cell* **55**(4): 577-587.
- Helm, M. M., N. Bourne, & A. Lovatelli (2006). "Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico." FAO Documento Técnico de Pesca 471. Roma. 184 pp.
- Hendriks, I. E., L. A. van Duren & P. M. J. Herman (2005). "Image analysis techniques: A tool for the identification of bivalve larvae?" *J. Sea Res.* **54**: 151-162.
- Herlin-Houtteville, P. (1974). "Contribution a l'etude cytologique et experimentale du cycle annuel du tissu de reserve du manteau de *Mytilus edulis* L." Tesis doctoral. Universidad de Caen (Francia). 114 pp.
- Hernández Córdova, G. A. (2000). "Ciclo de vida de *Perkinsus atlanticus* (Azevedo, 1989)." Tesis Doctoral. Dep. Bioquímica y Biología Molecular y Dep. Fisiología. Universidad de Santiago de Compostela. 238 pp.
- Hickman, C. S. (1999). "Larvae in invertebrate development and evolution." En: Hall, B. K. & M. H. Wake (Eds.) "The origin and evolution of larval forms." Academic press, San Diego. pp. 22-59.
- Hily, C. & D. Le Foll (1990). "Distribution des supports coquilliers sur les fonds meubles infralittoraux: rôle des perturbations physiques et consequences sur l'abondance et la distribution d'une population de *Chlamys varia*." *C. R. Acad. Sci. Paris* **311**(3): 187-192.
- Hoagland, K. E. (1978) "Protandry and the evolution of environmentally mediated sex change: a study of the Mollusca" *Malacologia* **17**: 365-391.
- Hodgson, C. A. & R. D. Burke (1988). "Development and larval morphology of the Spiny Scallop, *Chlamys hastata*." *Biol. Bull.* **174**: 303-318.
- <http://www.mejillondegalicia.tk/>
- <http://www.pescadegalicia.com>
- Hu, Y.-P., R. A. Lutz & R. C. Vrijenhoek (1992). "Electrophoretic identification and genetic analysis of bivalve larvae." *Mar. Biol.* **113**: 227-230.
- Hunt, P. A. & T. J. Hassold (2002). "Sex Matters in Meiosis." *Science* **296**: 2181-2183.

- Iglesias, M. L., N. González, J. M. Cabanas & M. T. Nunes (1984). "Condiciones oceanográficas de las Rías bajas gallegas y de la plataforma adyacente." Cuadernos Área Cienc. Mar. **1**: 107-118.
- Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2007a). "Asentamiento de *Chlamys varia* (Linné, 1758) en cuerdas de cultivo de mejillón en la Ría de Betanzos (A Coruña, NO de España). Implicaciones para el cultivo." En: Libro de Actas XI Congreso Nac. Acuicult. 24-28 septiembre. Vigo (España). pp. 511-514.
- Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2007b). "Obtención de semilla de volandeira (*Aequipecten opercularis*) por medio de colectores en la Ría de Aldán. Resultados preliminares." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **10**: 439-446.
- Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2008a). "How does reproduction and recruitment patterns match? The case of *Chlamys varia* in Ría de Betanzos-Sada, NW Spain." En: Book of abstracts Physioman 2008 International Meeting. 1-4 septiembre. Brest (Francia). p. 119.
- Iglesias, P., Á. Louro, S. Iglesias, T. Granell & G. Román (2008b). "Cultivo de la volandeira (*Aequipecten opercularis*) en Aldán." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **11**: 295-300.
- Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2009). "Obtención de semilla de volandeira (*Aequipecten opercularis*) en la Ría de Aldán por medio de colectores durante el año 2008." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **12**: 583-587.
- Iglesias, P., Á. Louro, & G. Román (2010) "Settlement of queen scallop *Aequipecten opercularis* on artificial substrates in Aldán, Ría de Pontevedra, Galicia, northwest Spain." J. Shellfish Res. **29**(4): 827-832.
- Ikenishi, K., T. S. Tanaka & T. Komiya (1996). "Spatio-temporal distribution of the protein of *Xenopus* vasa homologue (*Xenopus* vasa-like gene 1, XVLG1) in embryos." Dev. Growth Differ. **38**: 527-535.
- Illanes, J. E., S. Akaboshi & E. Uribe (1985). "Efectos de la temperatura en la reproducción del ostión del norte *Chlamys (Argopecten) purpuratus* en la Bahía Tongoy durante el fenómeno El Niño 1982-83." Invest. Pesq. (Chile) **32**: 167-173.
- Ito, H. (1991). "Scallops in Japan." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 1017-1051.
- Ito, S. (1977). "Present techniques and problems on the culture of scallops in Mutsu Bay." 5th Japan-Soviet Joint Symposium on Aquaculture. September 1976. Tokyo and Sapporo.
- Ito, S., H. Kanno & K. Takahashi (1975). "Some problems on culture of the scallop in Mutsu Bay." Bull. Mar. Biol. Stn. Asamushi **15**: 89-100.
- Jaramillo, R., J. Winter, J. Valencia & A. Rivera. (1993). "Gametogenic cycle of the Chiloé scallop (*Chlamys amandi*)." J. Shellfish Res. **12**(1): 59-64.
- Jorgensen, C. B. (1946). "Lamellibranchia." En: Thorson, G. (Ed.) "Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates with special reference to the planktonic larvae in the Sound (Øresund)." Medd. Komm. Dan. Fisk-Havundersog Serie: Plankton **4**: 1-523.
- Kang, C. K., M. S. Park, P. Y. Lee, W. J. Choi & W. C. Lee (2000). "Seasonal variations in condition, reproductive activity, and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in suspended culture in two coastal bays of Korea." J. Shellfish Res. **19**: 771-778.
- Kanno, H. (1970). "On the relationship between the occurrence of pelagic larvae and attached spat in Okunai." Aquaculture **17**: 121-134.
- Kloc, M., M. T. Dougherty, S. Bilinski, A. P. Chan, E. Brey, M. L. King, C. W. Patrick & L. D. Etkin (2002). "Three dimensional ultrastructural analysis of RNA distribution within germinal granules of *Xenopus*." Dev. Biol. **241**: 79-93.
- Kloc, M., S. Bilinski, M. T. Dougherty, E. M. Brey & L. D. Etkin (2004a). "Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*." Dev. Biol. **266**: 43-61.
- Kloc, M., S. Bilinski & L. D. Etkin (2004b). "The balbiani body and germ cell determinants: 150 years later." Curr. Top. Dev. Biol. **59**: 1-36.

- Kloc, M., M. Jaglarz, M. Dougherty, M. D. Stewart, L. Nel-Themaat & S. Bilinski (2008). "Mouse early oocytes are transiently polar: Three-dimensional and ultrastructural analysis." Exp. Cell Res. **314**: 3245-3254.
- Knaut, H., F. Pelegri, K. Bohmann, H. Schwarz & C. Nüsslein-Volhard (2000). "Zebrafish vasa RNA but not its protein is a component of the germ plasm and segregates asymmetrically before germline specification." J. Cell Biol. **149**(4): 875-888.
- Labarta, U. (1985). "A Galicia mariñeira." Editorial Galaxia. 234 pp.
- Labarta, U., M. J. Fernández-Reiriz & J. M. F. Babarro (1997). "Differences in physiological energetics between intertidal and raft cultivated mussels *Mytilus galloprovincialis*." Mar. Ecol. Prog. Ser. **152**: 167-173.
- Labarta, U., M. J. Fernández Reiriz, A. Pérez Camacho & E. Pérez Corbacho (2004). "Bateeiros, mar, mejillón. Una perspectiva bioeconómica." Editorial Galaxia. Vigo. 262 pp.
- Laing, I. (2002). "Effect of salinity on growth and survival of king scallop spat (*Pecten maximus*)."
- Aquaculture **205**: 171-181.
- Le Pennec, M. (1974). "Morphogénese de la coquille de *Pecten maximus* (L.) élevé au laboratoire." Cah. Biol. Mar. **15**: 475-482.
- Le Pennec, M. (1978). "Génèse de la coquille larvaire et postlarvaire chez divers bivalves marins." Tesis doctoral. Laboratoire de Zoologie. Université de Bretagne Occidentale-Brest (Francia). 229 pp.
- Le Pennec, M. (1980). "The larval and post-larval hinge of some families of bivalve molluscs." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **60**: 601-617.
- Le Pennec, M. (1982). "L'elevage experimental de *Chlamys opercularis* (L.) (Bivalvia, Pectinidae)." Vie. Mar. **4**: 29-36.
- Le Pennec, M., A. Paugam & G. Le Pennec (2003). "The pelagic life of the pectinid *Pecten maximus* - a review." ICES J. Mar. Sci. **60**: 211-223.
- Le Pennec, G., N. Aloui-Bejaoui & M. Le Pennec (2006). "Spermatozoa and phylogenesis of the pectinid bivalve *Flexopecten glaber*." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **86**(2): 425-428.
- Leclerc, C., P. Guerrier & M. Moreau (2000). "Role of dihydropyridine-sensitive calcium channels in meiosis and fertilization in the bivalve molluscs *Ruditapes philippinarum* and *Crassostrea gigas*." Biol. Cell **92**: 285-299.
- Leenhardt, H. (1926). "Quelques études sur *Gryphaea angulata* (huitre du Portugal)." Ann. Inst. Oceanog. **3**: 1-90.
- Lefort, Y. & J. Clavier (1993). "Reproduction of *Annachlamys flabellata*, *Comptopallium radula* and *Mimachlamys gloriosa* (Mollusca: Pectinidae) in the south-west lagoon of New Caledonia." Aquat. Living Resour. **7**: 39-46.
- Lenoir, F., I. Robbins, M. Mathieu, P. Lubet & P. A. Gabbott (1989). "Isolation, characterization and glucose metabolism of glycogen cells (vesicular connective-tissue cells) from the labial palps of the marine mussel *Mytilus edulis*." Mar. Biol. **101**: 495-501.
- Leonard, J. L. (2006). "Sexual selection: lessons from hermaphrodite mating systems." Integr. Comp. Biol. **46**(4): 349-367.
- Letaconnoux, R. & J. Audouin (1956). "Contribution a l'étude du petoncle (*Chlamys varia* L.)." Rev. Tran. Inst. Pêches Marit. **20**(2): 133-155.
- Lin, H. (1997). "The tao of stem cells in the germline." Ann. Rev. Genet. **31**: 455-491.
- List, T. (1902) "Die Mytiliden Fauna u. Flora Neapel." Mon. 27.
- Lo Nostro, F. L., F. N. Antoneli, I. Quagio-Grassiotto & G. A. Guerrero (2004). "Testicular interstitial cells and steroidogenic detection in the protogynous fish, *Synbranchus marmoratus* (Teleostei, Synbranchidae)." Tissue Cell **36**(4): 221-231.
- Lodeiros, C. (1999). "Factibilidad biológica del cultivo de especies de bivalvos marinos en el Oriente de Venezuela." En: "Memorias del Taller sobre aprovechamiento de especies de moluscos bivalvos." 3-7 noviembre. UCV-UDU, Margarita (Venezuela). pp. 1-6.

- Lodeiros, C. & J. H. Himmelman (2000). "Identification of environmental factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela." *Aquaculture* **182**: 91-114.
- Lodeiros, C., J. Rengel, L. Freites, F. Morales & J. H. Himmelman (1998). "Growth and survival of the tropical scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus*, maintained in suspended culture at three depths." *Aquaculture* **165**: 41-50.
- Longo, F. J. (1983). "Meiotic maturation and fertilization." En: Verdonk, N. H., J. A. M. van der Biggelaar & A. S. Tompa (Eds.) "The Mollusca. Vol. 3: Development." Academia Press, Inc., New York. pp. 49-89.
- Loosanoff, V. L. (1937). "Development of the primary gonad and sexual phases in *Venus mercenaria* Linnaeus." *Biol. Bull.* **72**: 389-405.
- Loosanoff, V. L. (1962). "Gametogénesis and spawning of the European Oyster, *O. edulis*, in waters of Maine." *Biol. Bull.* **122**: 86-94.
- Loosanoff, V. L. (1971). "Development of shellfish culture techniques." En: Price, K. S. Jr. & D. L. Maurer (Eds.) "Proc. of the conference on artificial propagation of commercially valuable shellfish." University of Delaware, Newark. pp. 9-40.
- Loosanoff, V. L. & H. C. Davis (1963). "Rearing of bivalve mollusks." *Advan. Mar. Biol.* **1**: 1-136.
- Loosanoff, V. L., H. C. Davis & P. E. Chanley (1966). "Dimensions and shapes of larvae of some bivalve mollusks." *Malacologia* **4**: 351-435.
- Lopez-Pinon, M. J., A. Insua & J. Mendez (2002). "Identification of four scallop species using PCR and restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region." *Mar. Biotechnol.* **4**: 495-502.
- Louro, Á., J. P. De la Roche, M. J. Campos & G. Román (2003). "Hatchery rearing of the black scallop, *Chlamys varia* (L.)." *J. Shellfish Res.* **22**(1): 95-99.
- Louro, Á., J. P. De la Roche, J. L. Sánchez, A. Silva, P. Martínez, M. L. Pérez-Parallé, I. Martínez & G. Román (2005a). "The effect of photoperiod on the conditioning of black scallop, *C. varia*. I: Gonadal development." En: Book of abstracts of the 15th Int. Pectinid Workshop. 20-26 abril. Mooloolaba (Australia). pp. 124-125.
- Louro, Á., G. Christophersen, T. Magnesen & G. Román (2005b). "Suspension culture of the great scallop *Pecten maximus* in Galicia, NW Spain-intermediate primary culture of hatchery produced spat." *J. Shellfish Res.* **24**(1): 61-68.
- Lowe, E. (1996). "Biology of Galician Scallops. 1996." Submitted as a part of the M. Sc in Applied Science (Aquaculture). Department of Zoology. University College Cork (Irlanda). 88 pp.
- Lubet, P. (1955). "Cycle neurosecretoire chez *Chlamys varia* L. et *Mytilus edulis* L. (Mollusques Lamellibranches)." *CR Acad. Sci., Paris* **241**: 119-121.
- Lubet, P. (1959). "Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilides et les pectinides." Tesis doctoral. *Rev. Trav. Off. Pêches Marit.* **23**(4): 387-548.
- Lubet, P. (1966). "Essai d'analyse expérimentale des perturbations produites par les ablations des ganglions nerveux chez *Mytilus edulis* L. and *Mytilus galloprovincialis* LMK (Mollusques Lamellibranches)." *Ann. Endoc.* **27**: 353-365.
- Lubet, P. (1991). "Bases biologiques de la culture des mollusques." En: Barnabé, G. (Ed.) "Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture." Tec & Doc Lavoisier, Paris. pp. 99-210.
- Lubet, P. (1996). "Bases biológicas del cultivo de moluscos." En: Barnabé, G. (Coord.) "Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura." Acribia. Zaragoza, España. pp. 100-216.
- Lubet, P. & C. Allarakh (1981). "Experimental studies on the sexual differentiation in some pectinid mollusc (Lamellibranchs)." *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* **70**(1): 47-58.
- Lubet, P., J. Y. Bernard, R. Faveris & I. Robbins (1987). "Physiologie de la reproduction de la coquille St-Jacques (*Pecten maximus* L.)." *Oceanis* **13**(3): 265-290.
- Lubet, P., R. Faveris, J. U. Besnard, I. Robbins & P. Duval (1991). "Annual reproductive cycle and recruitment of the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758), from the bay of Seine." En: Shum-

- way, S. E. & P. A. Sandifer (Eds.) "An International Compendium of Scallop Biology and Culture." The World Aquaculture Society. New York (USA). pp. 87-94.
- Lucas, A. (1965). "Recherche sur la sexualité des mollusques bivalves." Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Rennes (Francia). 136 pp.
- Lucas, A. (1984). "Développement contrôlé des bivalves marines." *Haliotis* **14**: 143-158.
- Lucas, A. & P. G. Beninger (1985). "The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture." *Aquaculture* **44**: 187-200.
- Luna-González, A. (1997). "Ciclo reproductivo de la almeja catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842), cultivada en la rada del Puerto de Pichiligüe, B. C. S. y su relación con el medio." Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. 74 pp.
- Lutz, R. & H. Hidu (1979). "Hinge morphogenesis in the shells of larval and early post-larval mussels *Mytilus edulis* (L.) and *Modiolus modiolus* (L.)." *J. Mar. Assoc. U. K.* **59**: 111-121.
- Lutz, R., J. Goodsell, M. Castagna, S. Chapman, C. Newel, H. Hidu, R. Mann, D. Jablonski, V. Kennedy, S. Siddall, R. Goldberg, H. Beattie, C. Falmagne, A. Chestnut & A. Partridge (1982). "Preliminary observations on the usefulness of hinge structures for identification of bivalve larvae." *J. Shellfish Res.* **2**: 65-70.
- Ma, H., J. P. Grassle, & R. J. Chant (2006). "Vertical distribution of bivalve larvae along a cross-shelf transect during summer upwelling and downwelling." *Mar. Biol.* **149**: 1123-1138.
- MacDonald, B. A. & R. J. Thompson (1986). "Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. 3. Physiological ecology, the gametogenic cycle and scope for growth." *Mar. Biol.* **93**: 37-48.
- Mackie, G. L. (1984). "Bivalves." En: Tompa, A. S., N. H. Verdonk & J. A. M. van den Biggelaar (Eds.) "The mollusca. Vol. 7. Reproduction." Academic press, New York. pp. 351-418.
- MacPhail, J. S. (1954). "The inshore scallop fishery of the maritime provinces." *Fish. Res. Board Can., Atl. Biol. Sta. Circ. (Gen. Ser.)* **22**: 4 pp.
- Maguire, J. A. & G. M. Burnell (1999). "The potential for scallop spat collection in Bantry Bay, Ireland." *Biol. Environ.* **99B**(3): 183-190.
- Mahowald, A. P., K. Illmensee & F. R. Turner (1976). "Interspecific transplantation of polar plasm between *Drosophila* embryos." *J. Cell Biol.* **70**: 358-373.
- Maldonado-Amparo, R., J. L. Ramirez, S. Avila & A. M. Ibarra (2004). "Triploid lion-paw scallop (*Nodipecten subnodosus* Sowerby); growth, gametogenesis, and gametic cell frequencies when grown at a high food availability site." *Aquaculture* **235**: 185-205.
- Manzoni, G. C., C. R. Poli, & G. S. Rupp (1996). "Período reproductivo del pectínido *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia) en los alrededores de la Isla Arvoredo (27° 17'S-48° 22'W) Santa Catarina, Brasil." En: Silva, A. & G. Merino (Eds.) "Acuicultura en Latinoamérica: Anais do IX Congresso Latinoamericano de Acuicultura." Universidad Católica del Norte (Chile). pp. 197-201.
- Marlow, F. L. & M. C. Mullins (2008). "Bucky ball functions in Balbiani body assembly and animal-vegetal polarity in the oocyte and follicle cell layer in zebrafish." *Dev. Biol.* **321**: 40-50.
- Martínez Ferreiro, R., X. Penas Patiño & X. M. Torres Reino (1998). "Síntese histórica do marisqueo en Galicia." En: "Marisqueo en Galicia. 3^{as} Xornadas de Medio Mariño e Acuicultura." Sada, 1994. Edicións do Castro, A Coruña, España.
- Mason, J. (1958). "The breeding of the scallop, *Pecten maximus* (L.), in Manx Waters." *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* **37**: 653-671.
- Mason, J. (1959). "The food value of the scallop, *Pecten maximus* (L.) from Manx inshore waters." *Rep. Mar. Biol. Sta., Port Erin* **71**: 47-52.
- Mason, J. (1963). "Queen scallop fisheries in the British Isles." Fishing News Book. Farnham. 144 pp.
- Mason, J. (1983). "Scallop and queen fisheries in the British Isles." Fishing News Book Ltd. Farnham Surrey, England. 144 pp.

- Mason, J. & J. Drinkwater (1978). "The settlement and early growth of the scallop, *Pecten maximus* (L.) and the queen, *Chlamys opercularis* (L.) in Scottish waters." En: Proc. 2nd Pectinid Workshop. 8-13 mayo. Brest (France).
- Masui, Y. (1985). "Meiotic arrest in animal oocytes." En: Monroy, A. & C. B. Metz (Eds.) "Biology of Fertilization. Vol. 1." Academic Press, Florida. pp. 189-219.
- Masui, Y. & H. J. Clarke (1979). "Oocyte maturation." *Int. Rev. Cytol.* **57**: 185-282.
- Mathieu, M. & P. Lubet, (1993). "Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves-a brief review." *Invertebr. Reprod. Dev.* **23**(2, 3): 123-129.
- Matsumoto, T., A. M. Nakamura, K. Mori & T. Kayano (2003). "Molecular characterisation of a cDNA encoding putative vitellogenin from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*." *Zool. Sci.* **20**: 37-42.
- Mayanagi, T., K. Ito & J. Takahashi (2003). "Association of culture of mouse urogenital complexes in media containing rodent sera with the appearance of primordial germ cell-like cells." *Reproduction* **125**: 519-526.
- McKay, G. (1976). "Larval settlement of *Pecten maximus* and *Chlamys opercularis* in sea lochs around the Isle of Mull, Scotland. En: Proc. 1st Scallop Workshop. 11-16 mayo. Baltimore (Ireland).
- McLaren, A. (2003). "Primordial germ cells in the mouse." *Dev. Biol.* **262**: 1-15.
- McLusky, D. S. (1973). "The effect of temperature on oxygen consumption and filtration rate of *Chlamys (Aequipecten) opercularis* (L.) (Bivalvia)." *Ophelia* **10**: 141-154.
- Méndez Felpeto, J. (Ed.) (2001). "Los moluscos bivalvos: aspectos citogenéticos, moleculares y aplicados." Monografía 87. Universidade da Coruña (España). pp. 215-240.
- Mendoza, Y., L. Freites, C. J. Lodeiros, J. A. López & J. H. Himmelmann (2003). "Evaluation of biological and economical aspects of the culture of the scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* in suspended and bottom culture." *Aquaculture* **221**: 207-219.
- Menzel, R. W. (1989). "The biology, fishery and culture of quahog clams, *Mercenaria*." En: Manzi J. J. & M. Castagna (Eds.) "Clam mariculture in North America." Elsevier, Amsterdam. pp. 507-521.
- Mestre, S. (1992). "Ciclo gametogénico y de almacenamiento de reservas en una población natural de *Pecten jacobaeus* (L.) (Bivalvia: Pectinidae) en las costas de Castellón". Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. 411 pp.
- Micarelli, P., M. Di Bitetto & R. Ceccarelli (1994). "Preliminary histological observations of mature gonads in (*Pecten jacobaeus*) fished off Western Sardinia." *Rivista Italiana Acquacoltura* **29**: 73-77.
- Minchin, D. (1976). "Pectinid settlement." En: Proc. 1st Scallop Workshop. 11-16 mayo. Baltimore (Ireland).
- Minchin, D. (1978). "The behaviour of young scallops (*Pecten maximus* L. Pectinidae)." En: Proc. 2nd Scallop Workshop. 8-13 mayo. Brest (France).
- Minchin, D. (1983). "*Pecten maximus* in Mulroy Bay. Part 2." En: Proc. 4th Int. Pectinid Workshop. 10-13 mayo. Aberdeen (Scotland).
- Montalenti, G. (1958). "Perspective of research on sex problems in marine animals." En: Buzzati-Traverso, A. A. (Ed.) "Perspectives in marine biology." Univ. Calif. Press. pp. 589-605.
- Morizur, Y. (1977). "Differentiation between juveniles of *Chlamys varia* and *Chlamys opercularis*." Conseil International pour l'Exploration de la Mer. Shellfish and Benthos Committee C.M.1977/K:40. <http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/2343/>
- Morse, D. E. (1988). "Ocean environmental and surface parameters controlling initial events in macro-fouler recruitment. Final technical report." 4 pp.
- Motavkine, P. A. & A. A. Varaksine (1983). "Histophysiologie du système nerveux et regulation de la reproduction chez les mollusques bivalves." *Sciences. Moscou*. 208 pp.
- Munday, P. L., P. M. Buston & R. R. Warner (2006). "Diversity and flexibility of sex-change strategies in animals. Review." *Trends Ecol. Evol.* **21**(1): 81-95.

- Muñoz, R. & R. Warner (2003). "A new version of the size-advantage hypothesis for sex change: incorporating sperm competition and size-fecundity skew." Am. Nat. **161**: 749-761.
- Naidu, K. S. (1970). "Reproduction and breeding cycle of the giant scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) in Port au Port Bay, Newfoundland." Can. J. Zool. **48**: 1003-1012.
- Naidu, K. S. (1991). "Sea scallop, *Placopecten magellanicus*." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 861-897.
- Najmudeen, T. M. (2008). "Ultrastructural studies of oogenesis in the variable abalone *Haliotis varia* (Vetigastropoda: Haliotidae)." Aquat. Biol. **2**: 143-151.
- Nakamura, S., M. Osada & A. Kijima (2007). "Involvement of GnRH neuron in the spermatogonial proliferation of the scallop, *Patinopecten yessoensis*." Mol. Reprod. Dev. **74**: 108-115.
- Narvarte, M. A. (1995). "Spat collection and growth to commercial size of the tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* (D'Orb.) in the San Matías Gulf, Argentina." J. World Aquacult. Soc. **26**(1): 59-64.
- Narvarte, M. A. (2001). "Biología reproductiva, historia de vida temprana y comportamiento en cultivo de la vieira tehuelche (*Aequipecten tehuelchus* D'Orb., 1846) (Bivalvia, Pectinidae). Resumen de Tesis doctoral. Universidad Nacional del Comahue, San Carlos de Bariloche, Río Negro (Argentina). 6 p.
- Narvarte, M. A. & M. S. Pascual (2003). "Fertilization, larval rearing and post-larval growth of the Tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* D'Orb., 1846." Aquaculture **217**(1-4): 259-274.
- Narvarte, M. A., E. Félix-Pico & L. A. Ysla-Chee (2002). "Asentamiento larvario de pectínidos en colectores artificiales." En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.) "Los moluscos pectinidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura." McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México pp. 173-192.
- Narváez, D. A., S. A. Navarrete, J. Largier & C. A. Vargas (2006). "Onshore advection of warm water, larval invertebrate settlement, and relaxation of upwelling off central Chile." Mar. Ecol. Prog. Ser. **309**: 159-173.
- Navarro, J. M. & C. M. González (1998). "Physiological responses of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* to decreasing salinities." Aquaculture **167**(3-4): 315-327.
- Néant, I. & P. Guerrier (1988). "6-Dimethylaminopurine blocks starfish oocyte maturation by inhibiting a relevant protein kinase activity." Exp. Cell Res. **176**(1): 68-79.
- Okada, K. (1939). "The development of the primary mesoderm in *Sphaerium japonicum biwaense* Mori." Sci. Rep. Tohoku. Imp. Univ. **14**: 25-47.
- Orensanz, J. M. (1986). "Size, environment, and density: regulation of a scallop stock and its management implications." Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. **92**: 195-227.
- Orensanz, J. M., A. M. Parma & O. Iribarne (1991). "Population dynamics and management of natural stocks." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V. (Amsterdam and New York). pp. 625-713.
- Orton, J. H. (1920). "Sea temperatura, breeding and distribution in marine animals." J. Mar. Biol. Ass. U.K. **12**: 339-366.
- Orton, J. H. (1927). "Observations and experiments on sex-change in the European Oyster (*O. edulis*). Part I. The change from female to male." J. Mar. Biol. Ass. (New Series) **14**(4): 967-1045.
- Osada, M. & T. Nomura (1990). "The levels of prostaglandins associated with the reproductive cycle of the scallop, *Patinopecten yessoensis*." Prostaglandins **40**(3): 229-239.
- Osada, M., T. Takamura, H. Sato & K. Mori (2003). "Vitellogenin synthesis in the ovary of scallop *Patinopecten yessoensis*: control by estradiol-17 β and the central nervous system." J. Exp. Zool. **299**(A): 172-179.
- Osanai, K. & R. Kuraishi (1988). "Response of oocytes to meiosis-inducing agents in pelecypods." Bull. Mar. Biol. Stn. Asamushi Tohoku Univ. **18**: 45-56.

- Padilla, M. & G. Olivares (1986). "Evaluación de la madurez vitelogénica en oocitos extirpados de la almeja *Venus antiqua antiqua*." Rev. Biol. Mar., Valparaíso **22**(1): 61-74.
- Parada, J. M., M. J. Cancelo, A. Fernández & A. Guerra (1993). "Comportamiento reproductivo de la zamburiña (*Chlamys varia* L.), cultivada en batea en Galicia (NO de España). En: Cerviño, A., A. Landín, A. de Coó, A. Guerra & M. Torre (Eds.) "Libro de Actas IV Congreso Nac. Acuicult." 21-24 septiembre 1993. Isla de Arosa-Pontevedra. Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta de Galicia. Santiago de Compostela-A Coruña (España). pp. 317-322.
- Parsons, G. J., M. J. Dadswell & J. C. Roff (1993). "Influence of biofilms on settlement of sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin 1791) in Passamaquoddy Bay, New Brunswick." Canada. J. Shellfish Res. **12**: 279-283.
- Parvinen, M. (2005). "The chromatoid body in spermatogenesis." Int. J. Androl. **28**: 189-201.
- Paugham, A., M. Le Pennec & G. Andre-Fontaine (2000). "Immunological recognition of marine bivalve larvae from plankton." J. Shellfish Res. **19**: 325-331.
- Paul, J. D. (1980a). "Salinity-Temperature relationships in the queen scallop *Chlamys opercularis*." Mar. Biol. **56**: 295-300.
- Paul, J. D. (1980b). "Upper temperature tolerance and the effect of temperature on byssus attachment in the queen scallop, *Chlamys opercularis* (L.)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **46**: 41-50.
- Paulet, Y. M. (1990). "Role de la reproduction dans le déterminisme du recrutement chez *Pecten maximus* (L) de la baie de Saint-Brieuc." Tesis doctoral. Université de Bretagne Occidentale-Brest (Francia). 194 pp.
- Paulet, Y. M. & J. Boucher (1991). "Is reproduction mainly regulated by temperature or photoperiod in *Pecten maximus*?" Invertebr. Reprod. Dev. **19**(1): 61-70.
- Paulet, Y. M., A. Lucas & A. Gerard (1988). "Reproduction and larval development in two *Pecten maximus* (L.) populations from Brittany." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **119**: 145-156.
- Paulet, Y. M., A. Donval & F. Bekhadra (1993). "Monoamines and reproduction in *Pecten maximus*, a preliminary approach." Invert. Reprod. Dev. **23**: 2-3.
- Paz, M., A. Mikhailov & M. Torrado (2001). "Sexual differentiation of the somatic gonad tissue in marine bivalve mollusks: esterase- and fibronectin-like recognition signals." Int. J. Dev. Biol. **45**(S1): S119-S120.
- Pazos, A. J. (1993). "Relaciones entre composición bioquímica y ciclo gametogénico en la vieira, *Pecten maximus* L." Tesis doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela. 276 pp.
- Pazos, A. J., G. Román, C. P. Acosta, M. Abad & J. L. Sánchez (1996). "Influence of the gametogenic cycle on the biochemical composition of the ovary of the great scallop." Aquacult. Int. **4**: 201-213.
- Pazos, A. J., G. Román, C. P. Acosta, M. Abad & J. L. Sánchez (1997). "Seasonal changes in condition and biochemical composition of the scallop *Pecten maximus* (L.) from suspended culture in the Ria de Arousa (Galicia, N.W. Spain) in relation of environmental conditions." J. Exp. Biol. Ecol. **211**: 169-193.
- Pearce, C. M. & E. Bourget (1996). "Settlement of larvae of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin), on various artificial and natural substrata under hatchery-type conditions." Aquaculture **141**: 201-221.
- Pekelharing, C. A. (1901). "Le tissu conjonctif de l'huitre." Petrus Camper D/I. Ned. Bijdr. Anat. pp. 228-238.
- Pelseneer, P. (1895). "Hermaphroditism in Mollusca." Quart. J. Micr. Sci. **37**: 19-46.
- Peña, J. B. (2002). "Taxonomía, morfología, distribución y hábitat de los pectínidos iberoamericanos." En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.) "Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura." Cap. 1. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México. pp. 1-25.
- Peña, J. B. (2005). "Efecto del tipo de colector sobre el asentamiento de larvas de pectínidos en la costa de Castellón (este de España)." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **21** (1-4): 353-360.

- Peña, J. B. & C. Rodríguez-Babío (2003). "Ultrastructural comparison of *Argopecten purpuratus*, *Aequipecten opercularis* and *Perapecten commutatus* spat." En: Proc. 14th Int. Pectinid Workshop. 23-29 abril. St. Petesburg, Florida (USA). pp. 56-57.
- Peña, J. B. & J. Canales (1993). "Captación de semilla de pectínidos en colectores filamentosos fondeados en la costa de Castellón. En: Cerviño, A., A. Landín, A. de Coó, A. Guerra & M. Torre (Eds.) Libro de Actas IV Congreso Nac. Acuicult. 21-24 septiembre. Isla de Arosa, Pontevedra, (España). Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela, A Coruña (España). pp. 365-370.
- Peña, J. B., J. Canales, C. Rodríguez-Babío & S. Mestre (1994). "Captación de moluscos y otros organismos mediante colectores filamentosos en la costa de Castellón durante 1991." Cuadernos de investigación biológica **18**: 211-223.
- Peña, J. B., S. Mestre & A. Farias (1995). "Pectinid settlement on artificial collectors in Castellon, East Spain, in 1990." En: Proc. 8th Int. Pectinid Workshop. 22-29 mayo. Cherburgo (Francia). Ifremer. Actes de Colloques 17: 111-114.
- Peña, J. B., J. Canales, J. M. Adsua, M. A. Sos (1996). "Study of seasonal settlements of five scallop species in the western Mediterranean." Aquacult. Int. **4**: 253-261.
- Peña, J. B., C. Ríos, S. Peña & J. Canales (1998). "Ultrastructural morphogenesis of pectinid spat from the western Mediterranean: A way to differentiate seven genera." J. Shellfish Res. **17**(1): 123-130.
- Peña, J. B., S. Peña-Llopis, M. C. Ballester & C. Saavedra (2002). "Comparación de la fijación de semillas de pectínidos en dos tipos de colectores fondeados frente a la costa de Burriana (Castellón)." En: CIVA 2002 (<http://www.civa2002.org>), pp. 640-646.
- Pepling, M. E., J. E. Wilhelm, A. L. O'Hara, G. W. Gephart & A. C. Spradling (2007). "Mouse oocytes within germ cell cysts and primordial follicles contain a Balbiani body." PNAS **104** (1): 187-192.
- Peres, S. (1981). "Estudo do ciclo reproductivo de *Pecten ziczac* (Linné, 1758) (Mollusca: Bivalvia)." Dissertação de Mestrado. Universidad de São Paulo (Brasil). 124 pp.
- Pérez-Camacho, A. & G. Román (1973). "El desarrollo larvario de *Venerupis pullastra*." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **165**: 3-36.
- Pérez Camacho, A. & G. Román (1987). "La reproducción en los moluscos bivalvos." En: Espinosa de los Monteros, J. & U. Labarta (Eds.) "Reproducción en acuicultura." CAICYT, Madrid. pp. 133-184.
- Pernet, F., R. Tremblay & E. Bourget (2003). "Settlement success, spatial pattern and behaviour of mussel larvae *Mytilus* spp. in experimental "downwelling" systems of varying velocity and turbulence." Mar. Ecol. Prog. Ser. **260**: 125-140.
- Perodou, D. & D. Latrouite (1981). "Contribution à l'étude de la reproduction du petoncle noir (*Chlamys varia*) de la baie de Quiberon." ICES C. M. 1981/K **33**. 10 pp.
- Peteiro, L. G. (2010). "Patrones de asentamiento y reclutamiento de *Mytilus galloprovincialis* en la Ria de Ares-Betanzos e implicaciones para su cultivo en batea." Tesis doctoral. Universidad de A Coruña. 152 pp.
- Phillips, B. T., K. Gassei & K. E. Orwig (2010) "Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. Review." Phil. Trans. R. Soc. B **365**: 1663-1678.
- Pickett, G. A. & A. Franklin (1975). "The growth of queen scallops (*Chlamys opercularis*) in cages off Plymouth, South-West England." ICES CM (K25). 4 pp.
- Pickett, G. D. (1977). "Artificial collection of pectinid spat: Preliminary experiments in Start Bay South-west England 1975 to 1977." ICES CM 1977/E49. pp. 1-6.
- Piferrer, F. (2009). "Determinación y diferenciación sexual de los peces." En: Carrillo, M. (Coord.) "La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura." Publicaciones científicas y tecnológicas de la Fundación OESA. p. 261.
- Pineda, J., N. B. Reyns & V. R. Starczak (2009). "Complexity and simplification in understanding recruitment in benthic populations." Popul. Ecol. **51**: 17-32.

- Pipe, R. K. (1987). "Ultrastructural and cytochemical study on interactions between nutrient storage cells and gametogenesis in the mussel *Mytilus edulis*." Mar. Biol. **96**(4): 519-528.
- Policansky, D. (1982). "Sex change in plants and animals." Annu. Rev. Ecol. Syst. **13**: 471-495.
- Proestou, D. A., M. R. Goldsmith & S. Twombly (2008). "Patterns of male reproductive success in *Crepidula fornicata* provide new insight for sex allocation and optimal sex change." Biol. Bull. **214**: 194-202.
- Puyana, M. & L. A. Velasco (2008). "Bioecología y taxonomía de las especies de pectínidos comerciales de Colombia." En: Velasco, L. A. (Ed.) "Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia." UniMagdalena, Santa Marta, D. T. C. H. pp. 9-29.
- Rahim, S. A. K. A., J.-Y. Li. & H. Kitamura (2004). "Larval metamorphosis of the sea urchins, *Pseudocentrotus depressus* and *Anthocardaris crassispina* in response to microbial films." Mar. Biol. **144**: 71-78.
- Ramonell, R. & M. Malvar (1993a). "Captación natural de semilla de volandeira *Chlamys opercularis* (Linné, 1767) los años 1989, 1990 y 1991 y su crecimiento en batea." En: Cervino, A., A. Landín, A. de Coó, A. Guerra & M. Torre (Eds.) Libro de Actas IV Congreso Nac. Acuicult. pp. 371-376.
- Ramonell, R. & M. Malvar (1993b) "Acuicultura maraña en Galicia." En: 2^{as} Jornadas de Medio Marino e Acuicultura." Sada, A Coruña (España). Noviembre 92-febrero 93. 235 pp.
- Ramonell, R., G. Román, C. P. Acosta & M. Malvar (1990). "Captación de semilla de pectínidos en colectores: Resultados de la campaña de prospección en Bueu (Ría de Pontevedra, Galicia) en 1988." En: Landín, A. & A. Cerviño (Eds.) Libro de Actas III Congreso Nac. Acuicult. pp 439-444.
- Raven, C. P. (1958). "Morphogenesis: the analysis of molluscan development." Pergamon Press. New York. 311 pp.
- Raven, C. P. (1966). "Morphogenesis. The analysis of molluscan development, 2nd edition." Pergamon Press. New York. 365 pp.
- Reddiah, K. (1962). "The sexuality and spawning of Manx Pectinids." J. Mar. Biol. Assoc. U. K. **42**: 683-703.
- Rees, C. B. (1950). "The identification and classification of lamellibranch larvae." Hull Bull. Mar. Ecol. **3**(19): 73-104.
- Remacha-Triviño, A. (2005). "Ciclo reproductivo de *Solen marginatus* (Pulteney, 1799) (Mollusca: Bivalvia) en la ría del Eo (noroeste de España)." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **21**(1-4): 375-385.
- Renzoni, A. (1991). "Fisheries and aquaculture-Italia." En: Shumway, S. E. (Ed.). "Scallop: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 777-788.
- Robert, R. & A. Gérard (1999). "Bivalve hatchery technology: the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France." Aquat. Living Resour. **12**(2): 121-130.
- Rodríguez, S. R., F. P. Ojeda & N. C. Inestrosa (1993). "Settlement of benthic marine invertebrates. Review." Mar. Ecol. Prog. Ser. **97**: 193-207.
- Rolán, E. & J. Otero-Schmitt (1996). "Guía dos moluscos de Galicia." Editorial Galaxia, Vigo (España). 318 pp.
- Román, G. (1991). "Fisheries and aquaculture. Spain." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: biology, ecology and aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., New York. pp. 753-762.
- Román, G. (2007). "La volandeira (*Aequipecten opercularis*) en Galicia: posibilidades de desarrollo de su cultivo comercial." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **9**: 271-278.
- Román, G. & A. Pérez. (1976). "Cultivo de larvas de vieira *Pecten maximus* (Linnaeus), en laboratorio." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **233**: 1-17.

- Román, G. & C. Acosta (1990). "Cultivo de vieira en batea. II: Reproducción." En: Landín, A. & A. Cerviño (Eds.) Libro de Actas III Congreso Nac. Acuicult. pp. 461-466.
- Román, G. & C. P. Acosta (1991). "Reproductive and reserve storage cycles in *Pecten maximus* reared in suspension. I: soft tissue growth and reproduction." En: "Actes des Colloques 8th Int. Pectinid Workshop." 22-29 mayo. Cherbourg (France). pp. 183-187.
- Román, G. & C. P. Acosta (1995). "Reproductive and reserve storage cycles in *Pecten maximus* reared in suspension. I. Soft tissue growth and reproduction." En: Lubet, P., J. Barret & J. C. Dao (Eds.) Proc. 8th Int. Pectinid Workshop, Cherbourg (France). 22-29 mayo. Actes de colloques Ifremer. pp. 183-187.
- Román, G. & J. Cano (1987). "Pectinid settlement on collectors in Málaga, SE Spain, in 1985." En: Proc. 6th Int. Pectinid Workshop. 9-14 april. Menai Bridge, Wales (Reino Unido). p. 32.
- Román, G. & M. J. Campos (1993). "Acondicionamiento de *Pecten maximus*." En: Cervino, A., A. Landín, A. de Co, A. Guerra & M. Torre (Eds.) "Libro de Actas IV Congreso Nac. Acuicult." Centro de Investigaciones Marinas, Pontevedra (España). pp. 305-310.
- Román, G., J. Cano & T. García (1985). "A first trial with pectinid collectors in Málaga (S. E. Spain)." En: Proc. 5th Pectinid Workshop. 6-10 mayo. A Coruña (España).
- Román, G., F. Fernández Cortés, C. P. Acosta & E. Rodríguez Moscoso. (1987). "Primeras experiencias con colectores de pectínidos en las Rías de Arosa y Aldán." Cuad. Marisq. Public. Tec. **12**: 375-380.
- Román, G., M. J. Campos & C. P. Acosta (1996). "Relationships among environment, spawning and settlement of queen scallop in the Ria de Arousa (Galicia, NW Spain)." Aquacult. Int. **4**: 225-236.
- Román, G., M. Campos, C. Acosta & J. Cano (1999). "Growth of the queen scallop (*Aequipecten opercularis*) in suspended culture: Influence of density and depth." Aquaculture **178**: 43-62.
- Román, G., M. J. Campos & J. Cano. (2000). "Viabilidad del cultivo de la vieira (*Pecten maximus*) en mar abierto en la costa de Málaga." Informe final.
- Román, G., C. P. Acosta, M. J. Campos, A. Pazos & J. L. Sánchez (2001a). "Interannual variation (1987-1992) in the reproductive cycle of the scallop (*Pecten maximus*) reared on rafts using the ear-hanging culture technique in O Grove, Ría de Arousa, NW Spain." En: Book of Abstracts 13th Int. Pectinid Workshop. 18-24 abril. Coquimbo (Chile).
- Román, G., M. J. Campos, J. Cano & C. P. Acosta (2001b). "Biología y cultivo de pectínidos." En: Méndez Felpeto, J. (Ed.) "Los moluscos bivalvos: aspectos citogenéticos, moleculares y aplicados." Monografía 87. Cap. 10. Universidad de A Coruña (España). pp. 215-240.
- Román, G., M. J. Campos, J. Cano & C. P. Acosta (2001c). "The reproduction of the Queen scallop *Aequipecten opercularis* in Galicia, NW Spain." En: Book of Abstracts 13th Int. Pectinid Workshop. 18-24 abril. Coquimbo (Chile).
- Román, G., J. Cano, M. J. Campos & J. I. López (2001d). "Biología y cultivo de la vieira en Málaga." Recursos pesqueros, Pesca y acuicultura, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía. España. 75 pp.
- Román, G., G. Martínez, O. García & L. Freitas (2002). "Reproducción." En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.) "Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura." McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. Méjico. pp. 27-59.
- Román, G., Á. Louro & P. Iglesias (2008). "Cultivo de pectínidos." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **11**: 95-112.
- Román, G., Á. Louro & P. Iglesias (2011). "Constraints for the development of scallop aquaculture in Galicia, NW Spain." En: Proc. 18th Int. Pectinid Workshop. 20-26 abril. Qingdao (China). pp. 28-31.
- Rupp, G. S., G. J. Parsons, R. J. Thompson & M. M. De Bem (2004). "Effect of depth and stocking density on growth and retrieval of the postlarval lion's paw scallop, *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758)." J. Shellfish Res. **22**: 472-482.

- Saffman, E. E. & P. Lasko (1999). "Germline development in vertebrates and invertebrates. Review." Cell. Mol. Life Sci. **55**(8-9): 1141-1163.
- Sáiz, F., M. López-Benito & E. Anadón (1957). "Estudio hidrográfico de la Ría de Vigo." Inv. Pesq. **8**: 29-87.
- Sánchez-Mata, A., M. Glémarec & J. Mora (1999). "Physico-chemical structure of the benthic environment of a Galicia Ría (Ría de Ares-Betanzos, northwest Spain)." J. Mar. Biol. Assoc. U.K. **79**: 1-21.
- Sasaki, R. (1979). "A report on the study of scallop and oyster in the course of Japan/Scotland exchange research scholarship 1977/78." Fisheries Division, Highlands and Islands. Dev. Board, Scotland. 24 pp.
- Sastry, A. N. (1966). "Temperature effects in reproduction of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck." Biol. Bull. **130**: 118-134.
- Sastry, A. N. (1979). "Pelecypoda (excluding Ostreidae)." En: Giese, A. C. & J. S. Pearse (Eds.) "Reproduction of marine invertebrates. Vol. V. Molluscs: pelecypods and lesser classes." Academic Press. New York. pp. 131-292.
- Sastry, A. N. & N. S. Blake (1971). "Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck." Biol. Bull. **140**: 274-283.
- Sause, B. L., D. Gwyther, P. J. Hanna & N. A. O'Connor (1987). "Evidence for winter-spring spawning of the scallop *Pecten alba* (Tate) in Port Phillip Bay, Victoria." Aust. J. Mar. Freshw. Res. **38**: 329-337.
- Schein, E. (1989). "Pectinidae (Mollusca, Bivalvia) bathyaux et byssaux des campagnes BIOGAS (Golfe de Gascogne). Systématique et biogéographie." Ann. Inst. Oceanoogr. Paris **65**: 59-125.
- Schmitzer, A. C., W. D. DuPaul & J. E. Kirkley (1991). "Gametogenic cycle of sea scallops (*Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791)) in the mid-Atlantic Bight." J. Shellfish Res. **10**: 221-228.
- Seed, R. (1976). "Ecology." En: Bayne, B. L. (Ed.) "Marine Mussels: Their Ecology and Physiology." Cambridge University Press. Cambridge. pp. 13-65.
- Shafee, M. S. (1980). "Ecophysiological studies on a temperate bivalve *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc (Bay of Brest)." Tesis doctoral. Université de la Bretagne Occidentale-Brest (Francia). 220 pp.
- Shafee, M. S. (1981). "Seasonal changes in the biochemical composition and calorific content of the black scallop *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc, Bay of Brest." Oceanol. Acta **4**: 331-341.
- Shafee, M. S. & A. Lucas (1980). "Quantitative studies on the reproduction of black scallop, *Chlamys varia* (L.) from Lanveoc area (bay of Brest)." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **42**: 171-186.
- Shanks, A. L., J. Largier, & L. Brink (2000). "Demonstration of the onshore transport of larval invertebrates by the shoreward movement of an upwelling front." Limnol. Oceanogr. **45**: 230-236.
- Silva, S. (2012). "Líneas germinales, cambio de sexo y ciclo reproductivo de *Ostrea edulis*." Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Skreslet, S. & E. Brun (1969). "On the reproduction of *Chlamys islandica* (O. F. Müller) and its relation to depth and temperature." Astarte **2** (1-2): 1-6.
- Skreslet, S. (1973). "Spawning in *Chlamys islandica* (O. F. Müller) in relation to temperature variations caused by vernal meltwater discharge." Astarte **6**(1): 9-14.
- Slater, J. (2005). "Spawning of king scallops, *Pecten maximus* (L.) in Mulroy bay and the relationship with spatfall intensity." J. Shellfish Res. **24**(4): 951-958.
- Smith, M. T., R. Forster, P. Whelpdale & E. D. Bell (2007). "Environmental variables and their influence on growth of the great scallop (*Pecten maximus*) in the English Channel." ICES CM 2007/G: 07.
- Sparagano, O. A. E., I. Purdom, F. G. Priest & P. F. Kingston (2002). "Molecular characterization of the bivalves *Mya arenaria*, *Mya truncata* and *Hiattella arctica*." Limnol. Oceanogr. **47**: 190-191.
- Sponaugle, S., R. K. Cowen, A. Shanks, S. G. Morgan, J. M. Leis, J. Pineda, W. Boehlert, M. J. Kingsford, K. C. Lindeman, C. Grimes & J. L. Munro (2002). "Predicting self-recruitment in marine populations: biophysical correlates and mechanisms." B. Mar. Sci. **70**: 341-375.

- Stanley, S. M. (1970). "Relation of shell form to life habits in the Bivalvia (Mollusca)." Memoirs of the Geological Society of America **125**: 1-296.
- Strand, Ø. & A. Nylund (1991). "The reproductive cycle of the scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758) from two populations in western Norway, 60°N and 64°N." En: Shumway, S. E. & P. A. Sandifer (Eds.) "An International Compendium of Scallop Biology and Culture." The World Aquaculture Society, Baton Rouge, L. A. (USA). pp. 95-105.
- Strand, Ø., P. T. Solberg, K. K. Andersen & Th. Magnesen (1993). "Salinity tolerance of juvenile scallops (*Pecten maximus*) at low temperature." Aquaculture **115**: 169-179.
- Strohmeier, T., A. Duinker & O. Lie (2000). "Seasonal variations in chemical composition of the female gonad and storage organs in *Pecten maximus* (L.) suggesting that somatic and reproductive growth are separated in time." J. Shellfish Res. **19**(2): 741-747.
- Styan, C. A. & A. J. Butler (2003). "Asynchronous patterns of reproduction for the sympatric scallops *Chlamys bifrons* and *Chlamys asperrima* (Bivalvia: Pectinidae) in South Australia." Mar. Freshw. Res. **54**: 77-86.
- Suárez, P., C. Álvarez, P. Molist & F. San Juan (2005). "Particular aspects of gonadal cycle and seasonal distribution of gametogenic stages of *Mytilus galloprovincialis*, cultured in the Estuary of Vigo." J. Shellfish Res. **24**(2): 531-540.
- Suárez, P., C. Álvarez, P. Molist & F. San Juan (2007). "Atresia gonadal durante el ciclo gametogénico de *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 cultivado en la ría de Vigo (noroeste de la península Ibérica)." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **23**(1-4): 3-10.
- Summerson, H. C. & C. H. Peterson (1990). "Recruitment failure of the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus* during the first red tide, *Ptychodiscus brevis*, outbreak recorded in North Carolina." Estuaries **13**: 322-331.
- Taguchi, K. (1979). "Scallop culture (*Patinopecten yessoensis*). Manual for its operation and management." Overseas Fishery Cooperation Foundation. 76 pp.
- Taylor, A. & T. Venn (1979). "Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop *Chlamys opercularis*, from the Clyde sea." J. Exp. Mar. Biol. **59**: 605-621.
- Tebble, N. (Ed.) (2006). "British bivalve seashells: A handbook for identification." Pisces Conservation Ltd. Electronic edition. 212 pp.
- Thompson, R. J. & B. A. MacDonald (1991). "Physiological integrations and energy partitioning." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 347-376.
- Thompson, R. J., R. I. E. Newell, V. S. Kennedy & R. Mann (1996). "Reproductive processes and early development." En: Kennedy, V. S., R. I. E. Newell & A. F. Eble (Eds.) "The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*." Maryland Sea Grant College, Maryland. pp. 335-370.
- Thouzeau, G. (1991a). "Experimental collection of postlarvae of *Pecten maximus* (L.) and other benthic macrofaunal species in the Bay of Saint-Brieuc, France. I. Settlement patterns and biotic interactions among the species collected." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **48**: 159-179.
- Thouzeau, G. (1991b). "Experimental collection of postlarvae of *Pecten maximus* (L.) and other benthic macrofaunal species in the Bay of Saint-Brieuc, France. II. Reproduction patterns and postlarval growth of five mollusc species." J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **148**: 181-200.
- Tompa, A. S. (1984). "Land Snails (Stylommatophora)." En: Tompa, A. S., N. H. Verdonk & J. A. M. van den Biggelaar (Eds.) "The Mollusca. Vol. 7. Reproduction." Academic Press, Orlando. pp. 47-140.
- Tompa, A. S., N. H. Verdonk, J. A. M. van der Biggelaar & K. M. Wilbur (1984). En: Tompa, A. S., N. H. Verdonk & J. A. M. van den Biggelaar (Eds.) "The Mollusca. Vol. 7. Reproduction." Academic Press, New York. 486 pp.
- Tosti, E. (2006). "Calcium ion currents mediating oocyte maturation events. Review." Reproductive Biology and Endocrinology **4**: 26.

- Toyooka, Y., N. Tsunekawa, Y. Takahashi, Y. Matsui, M. Satoh & T. Noce (2000). "Expression and intracellular localization of mouse Vasa-homologue protein during germ cell development." Mech. Dev. **93**(1-2): 139-49.
- Tunbridge, B. R. (1968). "The Tasman Bay Scallop fishery." Fish. Tech. Rep. N. Z. 18. 51 pp.
- Uddin, M. J., K. I. Park, D. H. Kang, Y. J. Park & K. S. Choi (2007). "Comparative reproductive biology of Yezo scallop, *Patinopecten yessoensis*, under two different culture systems on the east coast of Korea." Aquaculture **265**: 139-147.
- Uriarte, I. (2008). "Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en Chile." En: Lovatelli, A., A. Farias & I. Uriarte (Eds). "Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO." 20-24 agosto 2007. Puerto Montt (Chile). FAO Actas de Pesca y Acuicultura. 12. pp. 61-75.
- Uriarte, I., G. Rupp & A. Abarca (2002). "Producción de juveniles de pectínidos iberoamericanos bajo condiciones controladas." En: Maeda-Martínez, A. N. (Ed.) "Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura. Cap. 8. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. Méjico. pp. 147-172.
- Uribe, E. (Coord.) (2008). "Establecimiento de un protocolo de seguimiento ambiental para la determinación de la capacidad de carga para el cultivo del ostión del norte. Informe final." Universidad Católica del Norte (Chile). 189 pp.
- Valle, D. (1993). "Vitellogenesis in insects and other groups-a review." Mem. Inst. Oswaldo Cruz **88**(1): 1-26.
- Varela, M. (1992). "Upwelling and phytoplankton ecology in Galician (NW Spain) rias and shelfwaters." Bol. Inst. Esp. Oceanogr. **8**(1): 57-74.
- Velasco, L. A. (2008). "Acondicionamiento reproductivo de los pectínidos de interés comercial en Colombia." En: Velasco, L. A. (Ed.) "Biología y cultivo de los pectínidos de interés comercial de Colombia." Cap. 3. UniMagdalena, Santa Marta, D. T. C. H. pp. 65-85.
- Vélez, A., E. Alifa & L. Freitas. (1988). "Inducción de la reproducción en la vieira *Pecten ziczac*. I. Efecto de la temperatura sobre la maduración y desove." Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle **48**(4): 91-100.
- Ventilla, R. F. (1977). "A scallop spat collector trial off the northern Ardnamurchan coast." En: Proc. Scallop Workshop. 11-16 mayo. Baltimore (Ireland). White Fish Authority, Field Rep 485: 1-16.
- Ventilla, R. F. (1982). "The scallop industry in Japan." Adv. Mar. Biol. **20**: 309-382.
- Villalaz, J. R. (1994). "Laboratory study of food concentration and temperature effect on the reproductive cycle of *Argopecten ventricosus*." J. Shellfish Res. **13**: 513-519.
- Villalejo-Fuerte, M. & B. P. Ceballos-Vázquez (1996). "Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia: Pectinidae)." Rev. Biol. Trop. **44**: 591-594.
- Villalejo-Fuerte, M., A. Tripp-Quezada & F. García-Domínguez (2005). "Variación de los índices gonádico, de rendimiento muscular y de la glándula digestiva de *Spondylus princeps* (Gray, 1825) (Mollusca: Bivalvia) en Isla Cedros y Punta Eugenia, México." Rev. Biol. Mar. Oceanogr. **40**(1): 87-90.
- Wada, S. K. (1968). "Mollusca. 1. Amphineura, Gastropoda, Scaphopoda, Pelecypoda. En: Kume M. & K. Dan (Eds.) "Invertebrate Embriology." Nolit Publishing House, Belgrade. pp. 485-525.
- Wagner, H. P. (1991). "Review of the European Pectinidae (Mollusca: Bivalvia)." Vita Marina **41**: 1-48.
- Waller, T. R. (1978). "Morphology, morphoclines and a new classification of the Pteriomorphia (Mollusca: Bivalvia)." Philos. T. Roy. Soc. B **284**: 345-365.
- Waller, T. R. (1984). "The ctenolium of scallop shells: functional morphology of a key family-level character in the Pectinicaea (Mollusca: Bivalvia)." Malacologia **25**: 203-219.
- Waller, T. R. (1991). "Evolutionary relationships among commercial scallops (Mollusca: Bivalvia: Pectinidae)." En: Shumway, S. E. (Ed.) "Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture." Develop-

- ments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 21. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp. 1-73.
- Warner, R. R., D. R. Robertson & E. G. Leigh (1975) "Sex change and sexual selection" Science **190**: 633-638.
- Warner, R. R., D. E. Fitch & J. Standish (1996). "Social control of sex change in the shelf limpet, *Crepidula norrisiarum*: size-specific responses to local group composition." J. Exp. Marine Biol. Ecol. **204**: 155-167.
- Weismann, A. (1880-82, 1904). "Studies in the Theory of Descent (London, 1880-82)." translated from "Studien zur Descendenztheorie." (Leipzig, 1875).
- Weismann, A. (1880-82, 1904b). "The Evolution Theory (London, 1904)." translated from "Vorträge über Descendenztheorie gehalten an der Universität zu Freiburg im Breisgau." 2nd ed. (Jena, 1902).
- Wheatley, W. (1951). "A rapid staining procedure for intestinal amoebae and flagellates." Am. J. Clin. Pathol. **21**: 990-991.
- Widowati, I., J. C. Cochard, G. Dorange & M. Le Pennec (1992). "Etude expérimentale de la maturation ovocytaire chez *Pecten maximus* et *Crassostrea gigas* (Mollusca, Bivalvia)." Société Française de Malacologie. Aspects Récents de la Biologie des Mollusques. Ifremer. Actes de Colloques. 13: 47-56.
- Wilczynski, J. Z. (1959) "Sex behaviour and sex determination in *Crepidula fornicata* L." J. Exp. Biol. **36**(1): 34-39.
- Williams, J. R. & R. C. Babcock (2004). "Comparison of multiple techniques to evaluate reproductive variability in a marine bivalve: application to the scallop *Pecten novaezelandiae*." Mar. Freshwater Res. **55**: 457-468.
- Williams, R. & R. C. Babcock (2005). "Assessment of size at maturity and gonad index methods for the scallop *Pecten novaezelandiae*." New Zeal. J. Mar. Fresh. **39**: 851-864.
- Woods, F. H. (1931). "History of the germ cells in *Sphaerium striatinum*." J. Morph. Physiol. **51**(2): 545-595.
- Woods, F. H. (1932). "Keimbahn determinants and continuity of the germ cells in *Sphaerium striatinum* (Lam.)." J. Morphol. **53**: 345-365.
- Wylie, C. (1999). "Germ Cells. Review." Cell **96**: 165-174.
- Xin-hong, D., L. Bao-zhong, W. Chang-gong & X. Jian-hai (2002). "Cytological comparison of gametogenesis of scallops, *Argopecten irradians* and *Chlamys farreri*." Chin. J. Oceanol. Limn. **20**(3): 244-247.
- Xunta de Galicia, 2007. Disponible en <http://www.xunta.es> y http://medioambiente.xunta.es/espazosNaturais/espazos_cas.jsp
- Xunta de Galicia, Anuarios de Pesca 2003-2010
- Zerlic, T. (2001). "Marine bivalves of the Mljet National Park (Adriatic Sea, Croatia)." En: Book of abstracts Council of Unitas Malacologica 1998-2001. 19-25 Agosto. Viena (Austria). <http://www.univie.ac.at/WCM2001/abstracts.htm>.

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A) Artículos científicos

Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2010). "Settlement of queen scallop *Aequipecten opercularis* on artificial substrates in Aldán, Ría de Pontevedra, Galicia, Northwest Spain." J. Shellfish Res. **29**(4): 827-832.

Iglesias, P., Á. Louro y G. Román (2012, en prensa). "The effect of depth on the reproductive and reserve storage cycles of the pectinids *Aequipecten opercularis* (L., 1758) and *Chlamys varia* (L., 1758) in Galicia, NW Spain." J. Shellfish Res. **31**(3): 1-8.

B) Comunicaciones en congresos y foros

Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2007). "Asentamiento de *Chlamys varia* (Linné, 1758) en cuerdas de cultivo de mejillón en la Ría de Betanzos (A Coruña, NO de España). Implicaciones para el cultivo." En: Libro de actas XI Congreso Nacional de Acuicultura. 24-28 septiembre. Vigo (España). pp. 511-514.

Iglesias, P., Á. Louro, P. Ferreiro, R. Gandón, B. Bea & G. Román Louro & G. Román (2007). "Obtención de semilla de volandeira (*Aequipecten opercularis*) por medio de colectores en la Ría de Aldán. Resultados preliminares." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **10**: 439-446.

Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2008). "How does reproduction and recruitment patterns match? The case of *Chlamys varia* in Ría de Betanzos-Sada, NW Spain." En: Book of abstracts Physiomar 2008 International Meeting. 1-4 septiembre. Brest (Francia). p. 119.

Iglesias, P., Á. Louro, S. Iglesias, T. Granell & G. Román (2008). "Cultivo de la volandeira (*Aequipecten opercularis*) en Aldán." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **11**: 295-300.

Iglesias, P., Á. Louro, T. Granell, B. Bea & G. Román (2009). "Effect of depth on reproductive and storage reserve cycles. I: *Aequipecten opercularis*." En: Book of abstracts 17th International Pectinid Workshop. 22-28 abril. Santiago de Compostela (España). pp. 186-187.

Louro, Á., **P. Iglesias,** T. Granell, B. Bea & G. Román (2009). "Effect of depth on reproductive and storage reserve cycles. II: *Chlamys varia*." En: Book of abstracts 17th International Pectinid Workshop. 22-28 abril. Santiago de Compostela (España). pp. 190-191.

Román, G., **P. Iglesias,** T. Granell, B. Bea y Á. Louro (2009). "Effect of depth on reproductive and storage reserve cycles. III: *Pecten maximus*." En: Book of abstracts 17th International Pectinid Workshop. 22-28 abril. Santiago de Compostela (España). pp. 196-197.

Iglesias, P., Á. Louro & G. Román (2009). "Obtención de semilla de volandeira (*Aequipecten opercularis*) en la Ría de Aldán por medio de colectores durante el año 2008." Foro Ac. Rec. Mar. Rías Gal. **12**: 583-587.

